



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Utilização de ésteres de sacarose na produção de produtos farmacêuticos

**Trabalho submetido por Rita da Silva Gonçalves, para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas**

Outubro de 2013



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Utilização de ésteres de sacarose na produção de produtos farmacêuticos

**Trabalho submetido por Rita da Silva Gonçalves, para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas**

Trabalho orientado por Prof. Doutora Paula Silva

Outubro de 2013

Dedicatórias

À minha mãe, por todo seu apoio e amor incondicionais.

Agradecimentos:

Queria demonstrar o meu sincero agradecimento às seguintes pessoas pela ajuda e participação na realização desta monografia:

À Prof. Doutora Paula Silva, pela disponibilidade e ajuda demonstradas ao longo da orientação deste trabalho e por todo o conhecimento que me transmitiu ao longo do meu percurso académico,

À minha mãe e ao meu irmão, por me apoiarem e amarem incondicionalmente e por acreditarem que sempre alcançarei os meus objetivos.

Ao Diogo, por todo o amor, carinho, companheirismo, apoio, ajuda e por viver a meu lado as batalhas que travei durante o meu percurso académico.

Aos meus fiéis amigos, por todo o apoio que me deram durante a realização deste trabalho, por me estenderem a mão nos momentos mais difíceis e por se orgulharem de todas as minhas conquistas.

Resumo

Os ésteres de sacarose são surfactantes não-iônicos, que contêm um grupo hidrofílico, a sacarose e um grupo lipofílico, os ácidos gordos. São compostos biodegradáveis e não-tóxicos amplamente utilizados na produção de géneros alimentícios, de cosméticos e de produtos farmacêuticos. De acordo com os seus valores de EHL, do seu grau de esterificação e do tamanho da sua cadeia de carbonos, podem exibir propriedades emulgentes, solubilizantes, estabilizantes, molhantes e dispersantes. A utilização dos ésteres de sacarose na produção de produtos farmacêuticos engloba a emulsificação e estabilização de emulsões, microemulsões e nanoemulsões, a produção de niossomas e proniossomas, a dispersão e estabilização de nanossuspensões e a produção de nanopartículas sólidas lipídicas destinados à veiculação de fármacos. Também são capazes de modificar a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água, de controlar ou prolongar a sua libertação, alterar a permeabilidade cutânea e potenciar a sua penetração, promover a sua permeação e potenciar a absorção oral e cutânea dos mesmos.

Palavras-chave: Ésteres de sacarose; surfactante; EHL; emulgentes; modificação da solubilidade; libertação controlada; libertação prolongada; promoção da absorção

Abstract

Sucrose esters are non-ionic surfactants with a hydrophilic group, sucrose, and a lipophilic group, fatty acids. They are biodegradable, non-toxic compounds widely used in food, cosmetics and pharmaceutical products production. According to their HLB, their esterification degree and their carbon chain size, they can exhibit emulsifying, solubilizing, stabilizing, wetting and dispersing properties. The use of sucrose esters in the production of pharmaceutical products includes the emulsification and stabilization of emulsions, microemulsions and nanoemulsions, the dispersion and stabilization of nanosuspensions, the preparation of niosomes and proniosomes and the formulation of solid lipid nanoparticles designed for drug delivery. They are also capable of modifying solubility of poorly water soluble drugs, sustaining and controlling drug release, enhancing drug permeation and oral and skin absorption.

Keywords: Sucrose esters; surfactant; HLB; emulsifiers; solubility modification; controlled release; sustained release; absorption enhancement

Índice geral

1. Introdução.....	1
1.1. Sacarose.....	2
1.2. Ácidos gordos.....	3
2. Síntese.....	4
2.1. Síntese química.....	5
2.1.1. Esterificação.....	5
2.1.2. Interesterificação.....	6
2.1.3. Transesterificação.....	6
2.2. Síntese enzimática.....	10
2.3. Isolamento, purificação e análise.....	14
3. Ésteres de sacarose e as suas propriedades físico-químicas.....	16
4. Toxicidade e metabolismo.....	20
5. Aplicações farmacêuticas dos ésteres de sacarose.....	22
5.1. Emulsificação e estabilização de emulsões e microemulsões.....	22
5.2. Niossomas e administração transdérmica de fármacos.....	27
5.3. Nanoemulsões e nanossuspensões.....	33
5.4. Nanopartículas sólidas lipídicas.....	36
5.5. Modificação da solubilidade de fármacos.....	40
5.6. Libertação prolongada e libertação controlada de fármacos.....	47
5.7. Promoção da penetração e absorção cutâneas de fármacos.....	50
5.8. Promoção da absorção oral de fármacos.....	56
5.9. Promoção da absorção de fármacos administrados por outras vias.....	59
6. Conclusão.....	61
7. Referências Bibliográficas.....	63

Índice de figuras

Figura 1- Representação ilustrativa da reação global da esterificação direta. Adaptado de (Piccicuto et al., 2001).....	5
Figura 2- Representação ilustrativa da reação global da transesterificação. Adaptado de (Piccicuto et al., 2001).....	7
Figura 3- Figura ilustrativa relativa à ordem de acilação dos grupos hidroxilos da sacarose. Adaptado de (Rich, Bedell, & Dordick, 1995).....	10
Figura 4- Representação ilustrativa da estrutura molecular geral dos ésteres de sacarose. Adaptado de (Silva, 2012).....	19
Figura 5- Figura ilustrativa da estrutura de um niossoma. Adaptado de (Uchegbu & Florence, 1995).....	32

Índice de tabelas

Tabela 1- Representação do número de carbonos e das nomenclaturas sistemática e comum de alguns ácidos gordos presentes na Natureza. Adaptado de (Gurr et al., 2002).....4

Tabela 2- Valores de EHL recomendados para diferentes aplicações farmacêuticas. Adaptado de (Szűts & Szabó-Révész, 2012).....19

Tabela 3- Tabela representativa dos ésteres de sacarose utilizados por Thevenin et al. (1996).....26

Tabela 4- Tabela representativa dos ésteres de sacarose utilizados na preparação de co-precipitados de nifedipina. Adaptado de (Ntawukulilyayo et al., 1993).....41

Tabela 5- Tabela representativa dos ésteres de sacarose utilizados por Okamoto et al.,(2005).....53

Lista de abreviaturas

A/O₂: Água-em-óleo

AUC_{0-t}: Área sob a curva

cm: centímetro

CMC: Concentração micelar crítica

DMF: Dimetilformamido

DMSO: Dimetilsulfóxido

EFSA: European Food Safety Authority

EHL: Equilíbrio Hidrófilico-Lipofílico

IDA: Ingestão Diária Aceitável

kg: quilograma

µg: micrograma

min: minuto

µM: micromolar

µS: microunidades de Svedberg

µU: microunidades

mg: miligramas

mL: mililitros

ng: nanogramas

O/A: Óleo-em-água

pg: picograma

PG: Propilenoglicol

PEG: Polietilenoglicol

PVP: Polivinilpirrolidona

SFC: Scientific Committee for Food

S/O: Sólido-em-óleo

U: Unidades

1. Introdução

Os combustíveis fósseis são compostos derivados da matéria orgânica existente na Terra desde a Pré-História e atualmente, são o recurso por excelência mais utilizado para a produção de energia. (Lichtenthaler, 1991) Combustíveis como o carvão e o petróleo são utilizados não só como fontes de energia mas também na produção de vários compostos químicos. No entanto, devido ao impacto negativo sobre o ambiente que a sua utilização acarreta e devido ao facto de serem combustíveis esgotáveis, a procura por matérias-primas renováveis pela indústria química tem sido cada vez maior. (Carvalho, Ferreira, & Rocha, 2009) De facto, o desenvolvimento de metodologias e técnicas que permitam o emprego de matérias-primas renováveis provenientes da biomassa terrestre, em vez de combustíveis fósseis tem sido cada vez mais defendido e estudado. A biomassa existente no reino vegetal é a principal fonte de matérias-primas utilizadas, pelas indústrias, na produção de compostos químicos, materiais e combustíveis e esta é composta por vários componentes como os óleos vegetais e essenciais, a lenhina, os glúcidos, entre outros. (Ballesteros, Plou, & Alcalde, 2006)

Os Glúcidos são compostos orgânicos que constituem parte integrante da biomassa renovável existente na Terra, sendo a classe de compostos renováveis de maior importância para as indústrias. (Lichtenthaler & Peters, 2004) Estes dividem-se em monossacáridos, dissacáridos e polissacáridos e encontram-se em todos os seres vivos, principalmente com um papel estrutural na constituição das plantas, alguns animais e bactérias. (Polat & Linhardt, 2001) As estruturas mais simples dos Glúcidos são os monossacáridos, sendo a D-glicose o monossacárido mais abundante na Natureza. Por sua vez, os dissacáridos são constituídos por duas moléculas de monossacáridos, sendo que os mais comumente presentes na natureza são a sacarose, a lactose e a maltose. As formas mais complexas são os polissacáridos, onde estão inseridos as fibras e o amido. (Lichtenthaler, 1991)

Os polissacáridos são o grupo de Glúcidos utilizado em maior volume por várias indústrias. (Ballesteros et al., 2006; Lichtenthaler & Peters, 2004) Os seus constituintes como a glucose, a frutose e a xilose têm poucos custos de produção e são bastante utilizados pelas mesmas. A sacarose, por sua vez é o dissacárido de maior produção a nível industrial. (Carvalho et al., 2009) Assim, os Glúcidos representam fontes de matérias-primas renováveis, que podem ser aplicadas na produção de produtos

farmacêuticos, alimentares, químicos, surfactantes, entre outros. (Ballesteros et al., 2006)

A presente monografia tem como finalidade destacar as aplicações farmacêuticas dos ésteres de sacarose, por serem surfactantes provenientes de matérias-prima natural, abordando também as metodologias utilizadas na sua síntese, isolamento, purificação, análise, as suas propriedades e toxicidade.

1.1 Sacarose

A sacarose, coloquialmente conhecida como açúcar de mesa, é o Glúcido de baixo peso molecular de maior abundância no reino vegetal e representa uma das principais fontes de energia para os seres vivos. É extraída na sua forma pura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e da beterraba (*Beta vulgaris*). (Polat & Linhardt, 2001) É constituída por dois monossacarídeos: a glicose e a frutose, que estão unidas por uma ligação glicosídica, formada pelos dois carbonos anoméricos destas duas moléculas, tornando a sacarose num açúcar não redutor (Queneau, Fitremann, & Trombotto, 2004). A sua designação IUPAC é β -D-frutofuranosil- α -D-glucopiranosose e contém oito grupos hidroxilo reativos, três primários (6, 1' e 6') e cinco secundários (2, 3, 4, 3'e 4'). (Okumura, Kitazawa, Wada, & Hotta, 2011; Queneau, Jarosz, Lewandowski, & Fitremann, 2007). Este dissacárido encontra-se comercialmente disponível em grandes quantidades e com um grau de pureza elevado. (Jarosz & Mach, 2002) A sua produção industrial é realizada à larga escala., sendo utilizada, não só pela indústria alimentar na produção de alimentos e bebidas, mas também em outras áreas como a síntese de surfactantes e a fermentação. A sua utilização apresenta também como vantagens o fácil transporte e armazenamento e o baixo custo de produção, além de que representa uma fonte renovável de energia, com pouco impacto negativo para o ambiente. (Polat & Linhardt, 2001)

Em relação às suas propriedades físico-químicas, a sacarose é um composto orgânico incolor e cristalino e apresenta um ponto de fusão entre 182 e 185° C. É estável em meios básicos, no entanto é suscetível em meios ácidos e sofre hidrólise (Jarosz & Mach, 2002). É solúvel em apenas alguns solventes polares como a água, o dimetilformamido (DMF), o dimetilsulfóxido (DMSO) e a piridina, logo é necessário ter em conta a solubilidade da mesma e a facilidade de remoção do solvente, aquando as reações. (Queneau et al., 2007) O facto de a sacarose conter oito grupos hidroxilo

reativos permite que vários compostos com diferentes graus de substituição e diferentes posições na sua estrutura molecular possam ser produzidos a partir de uma simples reação. No entanto, o isolamento destes derivados é difícil devido à formação de uma mistura de compostos com vários graus de substituição resultante da reação. Como tal, é necessário controlar a seletividade das reações, pois os produtos resultantes destas exibem propriedades físico-químicas e aplicações bastante díspares. (Queneau et al., 2004) Os grupos hidroxilos OH-6, OH-6' e OH-1', devido às ligações de hidrogénio estabelecidas entre eles, apresentam maior reatividade comparativamente com os outros quando reagem com compostos volumosos, no entanto se for utilizada uma base forte na reação, o grupo hidroxilo que reagirá primeiro é o 2-OH, por ser o grupo hidroxilo mais ácido. (Lichtenthaler & Peters, 2004) Esta reatividade semelhante entre os vários grupos hidroxilo constitui um problema na síntese de ésteres de sacarose, visto que as suas propriedades físico-químicas são estabelecidas pelo grau de substituição e pela posição que acilação toma na molécula de sacarose. (Ballesteros et al., 2006) Assim, é imperativo controlar as condições e o tipo de reação e ter em conta a natureza dos compostos eletrófilos, porque vão influenciar a reatividade dos grupos hidroxilos. (Queneau et al., 2007)

1.2 Ácidos gordos

Os ácidos gordos são ácidos carboxílicos e podem ser classificados como saturados e insaturados, dependendo da sua composição e da sua estrutura. Existem várias nomenclaturas para designar para os ácidos gordos, sendo a nomenclatura IUPAC é a designação oficial, no entanto, existem outras nomenclaturas alternativas utilizadas como é o caso das nomenclaturas comum e abreviada. (O'keefe, 2008)

Os ácidos gordos saturados apresentam uma cadeia linear de carbonos ligados entre si e a moléculas de hidrogénio e não apresentam nenhuma ligação dupla na sua cadeia, sendo que o seu comprimento em geral varia entre 4 carbonos, como o ácido butírico, e 22 carbonos, como o ácido tetracosanóico. (Gurr, Harwood, & Frayn, 2002) À temperatura ambiente, a forma física dos ácidos gordos de cadeia curta é líquida, ao passo que os ácidos gordos de cadeia longa são sólidos. (Rustan & Drevon, 2012) Os ácidos gordos insaturados são caracterizados pela existência de ligações duplas entre carbonos nas suas estruturas e são líquidos à temperatura ambiente (O'keefe, 2008)

Dentro do grupo dos ácidos gordos insaturados existem os mono-insaturados e os poli-insaturados. Os ácidos gordos mono-insaturados contêm apenas uma ligação dupla na sua estrutura e contêm entre 16 a 22 carbonos, ao passo que os ácidos gordos poli-insaturados (PUFA) apresentam duas ou mais ligações duplas na sua estrutura, podendo estar separadas por um grupo metileno ou não. (Gurr et al., 2002) A tabela 1 exhibe alguns exemplos de ácidos gordos saturados, mono e poli-insaturados existentes na Natureza.

Os ácidos gordos saturados exibem um ponto de fusão mais elevado comparativamente com os ácidos gordos insaturados. Os ácidos gordos poli-insaturados, por sua vez, são mais suscetíveis à oxidação devido à presença de duplas ligações na sua estrutura e necessitam de condições especiais de manuseamento. (Gurr et al., 2002) Porém, por possuírem carácter lipofílico, são pouco solúveis em água, sendo que a mesma diminui com o aumento do tamanho da cadeia de carbonos. Os ácidos gordos são também capazes de formar micelas em soluções aquosas e são utilizados na indústria farmacêutica como sabões, lipossomas e na produção de ésteres de sacarose (Rustan & Drevon, 2012).

Tabela 1- Representação do número de carbonos e das nomenclaturas sistemática e comum de alguns ácidos gordos presentes na Natureza. Adaptado de (Gurr et al., 2002).

Ácidos gordos insaturados		
Número de Carbonos	Nomenclatura Sistemática	Nomenclatura Comum
2	Ácido n-Etanóico	Ácido Acético
10	Ácido n-Decanóico	Ácido Cáprico
12	Ácido n-Dodecanóico	Ácido Láurico
14	Ácido n-Tetradecanóico	Ácido Mistúrico
16	Ácido n-Hexadecanóico	Ácido Palmítico
18	Ácido n-Octadecanóico	Ácido Esteárico
22	Ácido n-Docosanóico	Ácido Beénico
Ácidos gordos mono-insaturados		
18	Ácido <i>cis</i> -9-Octadecenóico	Ácido Oléico
20	Ácido <i>cis</i> -11-Eicosenóico	Ácido Gondóico
Ácidos gordos poli-insaturados		
18	Ácido <i>cis,cis</i> -6,9-Octadecadienóico	Ácido Linolénico
18	Ácido <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13-Octadecatrienóico	Ácido Eleosteárico

2. Síntese

A literatura e as patentes referentes à produção de ésteres de sacarose e de outros Glúcidos são cada vez mais abundantes e este tem sido um campo de grande investigação e desenvolvimento. Os ésteres de ácidos gordos de sacarose podem ser obtidos através de várias técnicas que envolvem esterificação direta, interesterificação ou transesterificação, tendo como catalisadores da reação compostos químicos e enzimáticos.(Carvalho et al., 2009; Polat & Linhardt, 2001)

2.1. Síntese Química

2.1.1. Esterificação

A esterificação é caracterizada como sendo uma reação entre um ácido carboxílico e um álcool. Requer de um catalisador ácido ou base fortes e é uma reação lenta. (Christie, 1993) Nesta reação, há a formação de água, normalmente é conduzida a elevadas temperatura e é necessária a utilização de anidridos e cloretos de ácidos (Carvalho et al., 2009; Christie, 1993) e a sua reação global está ilustrada na figura 1.

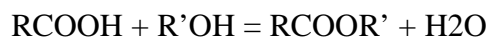


Figura 1- Representação ilustrativa da reação global da esterificação direta. Adaptado de (Piccicuto et al., 2001).

Atualmente, a esterificação química é uma técnica pouco utilizada na produção de ésteres de ácidos gordos de sacarose pois envolve o emprego de temperaturas elevadas, o que pode levar a degradação da sacarose, visto que carameliza à temperatura de 185 °C. (James & Smith, 2008) Esta reação também apresenta como desvantagem o facto de produzir uma mistura de ésteres com vários graus de substituição, o que limita a sua utilização e aplicação. (Hill & Rhode, 1999)

2.1.2. Interesterificação

Nesta reação, ocorre a transformação de um éster noutro, devido a uma troca de dois grupos alcóxidos na presença de um catalisador básico. Inicialmente, as patentes descrevem a utilização de DMF como solvente, onde a sacarose é dissolvida, e de carbonato de potássio como catalisador. A interesterificação é conduzida a temperaturas que rondam os 90°C e sob vácuo. Porém, este método apresenta algumas limitações como o facto de ser um processo demorado, dificuldade na purificação dos produtos obtidos e a utilização de elevadas temperaturas e de solventes que apresentam toxicidade. Como tal, Feuge & Zeringue, (1970) desenvolveram um método de obtenção de ésteres de ácidos gordos de sacarose sem a aplicação de um solvente, aplicando a sacarose fundida e ésteres metilo de ácidos gordos de cadeia longa como reagentes. Neste procedimento, sabões de lítio, potássio e sódio foram utilizados como catalisadores e solubilizantes. O palmitato de lítio não produziu nenhum éster de sacarose, ao passo que o oleato de lítio produziu mais de 90% de ésteres de sacarose com um grau de substituição superior a 3. Elevadas percentagens de ésteres de sacarose mono substituídos foram produzidas pelos oleatos de sódio e de potássio. Misturas de oleato de lítio e de palmitato de potássio produziram quantidades semelhantes de ésteres mono e di-substituídos. As temperaturas aplicadas aquando a reação variaram entre os 170 e os 187 °C.

2.1.3 Transesterificação

A transesterificação, ou alcoólise, é uma reação em que um éster é transformado noutro pela substituição do seu grupo alcóxido por um álcool. (Schuchardt, Sercheli, & Matheus, 1998) Nesta reação, a formação de ésteres ocorre devido à mistura dos reagentes e é necessária a utilização de um catalisador, base ou ácido fortes, para promover o equilíbrio. A sua reação global está ilustrada na figura 2.



Figura 2- Representação ilustrativa da reação global da transesterificação. Adaptado de (Piccicuto et al., 2001).

A transesterificação é a técnica preferencial para a produção de ésteres de sacarose e a sua aplicação está disseminada por várias indústrias na produção de diferentes compostos como o etilenoglicol, produzido a partir de carbonato de etileno e o metanol, o polietileno tereftalato, a partir do dimetiltereftalato e do etilenoglicol e o biodiesel, que é composto por ésteres alcóxidos de óleos vegetais. (Srinivas, Srivastava, & Ratnasamy, 2007)

De acordo com a literatura e patentes disponíveis, inicialmente, os ésteres de sacarose eram sintetizados por transesterificação. Com o objectivo de solubilizar a sacarose e os ésteres alquila de ácidos gordos, solventes como o DMSO e o DMF eram utilizados. A reação decorria a temperaturas que rondavam os 90 ° C e era conduzida na presença de um catalisador básico como o carbonato de potássio. (James & Smith, 2008; Osipow & Rosenblatt, 1967; Queneau, Chambert, Besset, & Cheaib, 2008) Esta técnica é conhecida como o procedimento de Hass-Snell e apresenta como uma das suas desvantagens como a utilização de solventes tóxicos. Como tal, vários estudos sobre a transesterificação sem a utilização de solventes foram efetuados, com o objetivo não só de tornar esta técnica mais económica à larga escala, mas também torná-la mais ecológica e menos prejudicial para o ambiente e para a população. (Fitremann, Queneau, Maitre, & Bouchu, 2007) Por exemplo, o propilenoglicol (PG) foi utilizado como solvente na preparação de uma microemulsão e os autores observaram a formação de mono e di-ésteres de sacarose numa proporção de 85:15 (p/p) respetivamente, ao utilizarem uma proporção molar de 1,5:1 de ésteres de metilo e sacarose respetivamente. Apesar de esta técnica apresentar algumas vantagens como a menor quantidade de sacarose utilizada, foi necessário remover o PG através de destilação, correndo o risco de alguns resíduos tóxicos permanecerem no produto final e não fornecendo nenhuma solução para a problemática da utilização de solventes tóxicos. (Osipow & Rosenblatt, 1967). Parker, Khan, & Mufti (1976) referem que a patente britânica N.º 1332190

ácidos gordos e por um catalisador catiónico, que é submetida a uma desidratação a elevadas temperaturas e a pressão reduzida. Este procedimento é demasiado complexo para a sua utilização a nível industrial pois acarreta como desvantagens o facto de ser imperativo o controlo da pressão relativamente à temperatura, de forma a se evitar a hidrólise dos ácidos gordos.

Rizzi & Taylor (1976) descrevem uma técnica de síntese de ésteres de sacarose através da utilização de polióis, que contêm na sua estrutura molecular, no mínimo, dois grupos hidroxilo. A reação consiste na formação de uma mistura fundida homogénea a partir de outra composta por polióis, uma base catalisadora e um metal alcalino como sabão e, posteriormente ésteres alquilo de ácidos gordos são adicionados em excesso a esta mistura. A separação dos componentes é feita por extração por solvente ou destilação. Foram obtidos rendimentos entre 86% e 98% na formação de ésteres poli-substituídos de sacarose através desta técnica.

As patentes também referem um método de síntese sem solvente que recorre a altas temperaturas controladas por radiações micro-ondas e na presença de sais de potássio como catalisadores. Os sais de potássio são utilizados como fonte de catiões, o que aumenta a solubilidade do açúcar em questão relativamente ao éster alquilo do ácido gordo utilizado (James & Smith, 2008) e também exibem propriedades emulgentes, o que facilita a dissolução do açúcar no éster alquilo do ácido gordo. (Fitremann et al., 2007) O processo é conduzido a altas temperaturas, no entanto, não podem ser excessivamente elevadas de forma a não proporcionarem a degradação dos reagentes. No caso da sacarose, como esta carameliza a temperaturas entre 183 e 185°C, a reação deve ser conduzida a temperaturas entre os 125°C e os 140°C, de forma a evitar a sua decomposição. (James & Smith, 2008) Contudo, este procedimento apresenta alguns problemas de reatividade, devido ao aparecimento de interfaces sólidas. Estas impossibilitam a conversão da sacarose e dos ésteres de ácidos gordos, sendo que o produto mais abundante proveniente da reação foram ésteres de sacarose poli-substituídos. (Fitremann et al., 2007)

Fitremann et al. (2007) sintetizaram ésteres de sacarose, ao fundirem-na com várias bases multivalentes e estearato de potássio, na ausência de solvente. Com o intuito de evitar a formação das interfaces sólidas, a sacarose foi misturada com grandes quantidades de bases multivalentes, o que levou a formação de pastas viscosas miscíveis com o palmitato de metilo. No caso do estearato de potássio, ocorreu a formação de um pó contendo sacarose-potássio, bastante difícil de solubilizar com o palmitato de metilo.

Relativamente aos catalisadores utilizados na transesterificação, está preconizado na literatura que a utilização de catalisadores de carácter básico apresenta maior vantagem relativamente aos de carácter ácido, pois são mais eficientes no aumento da velocidade da reação e são menos corrosivos. (Freedman, Butterfield, & Pryde, 1986; James & Smith, 2008; Parker et al., 1976; Srinivas et al., 2007) Compostos como carbonatos, hidróxidos e alcóxidos de metais alcalinos são os mais utilizados. Está descrito que a utilização de hidróxido de sódio proporciona uma formação abundante de ésteres de sacarose substituídos no grupo OH-2. (Molinier & Wisniewski, 2003) Fosfato hidrogenado dissódico é utilizado na síntese seletiva de mono-ésteres de sacarose, e através da análise das placas de cromatografia, verificou-se que a formação de ésteres mono-substituídos foi bastante superior à dos restantes compostos presentes nas mesmas. (Cruces, Plou, Ferrer, Bernabé, & Ballesteros, 2001) O carbonato de potássio é referido em várias patentes e literatura, como sendo o catalisador preferencialmente utilizado na transesterificação. (James & Smith, 2008; Parker et al., 1976; Polat & Linhardt, 2001) A utilização de gliceróxido de potássio gera, num período de tempo equivalente a duas horas, uma mistura composta por 24 a 25% de mono-ésteres de sacarose. No entanto, é necessário que a sua concentração inicial seja de 30%. (Galleymore, James, Jones, & Bhardwaj, 1982) Também podem ser utilizados outros compostos como bases não iónicas e enzimas como as lipases, se for o caso de uma síntese enzimática. (Hoydonckx, Vos, Chavan, & Jacobs, 2004)

A síntese química de ésteres mono-substituídos de sacarose é difícil de realizar devido a reatividade dos vários grupos hidroxilos da sacarose e à existência de migrações intramoleculares. (Chauvin, Baczko, & Plusquellec, 1993; Cruces et al., 2001; Haines, 1981; Queneau et al., 2008) No entanto vários estudos foram realizados com o intuito de desenvolver técnicas que possibilitem a produção seletiva de ésteres de sacarose. (Ferrer, Cruces, Bernabe, Ballesteros, & Plou, 1999) Por exemplo, mono-ésteres de sacarose substituídos na posição 6 foram produzidos através da utilização de ésteres mono substituídos nos grupos hidroxilos 2-OH e 3-OH como intermediários. Esta técnica baseou-se no controlo da migração nas posições dos grupos hidroxilo 2-OH e 3-OH através do emprego de acil-tiazolidina tiona e as reações ocorreram na presença de solventes orgânicos. (Baczko, Nugier-chauvin, Banoub, Thibault, & Plusquellec, 1995)

A acilação da sacarose sob as condições de Mitsunobu permitiu a produção de ésteres de sacarose mono substituídos nas posições 6-OH e 6'-OH e de misturas de di-ésteres substituídos nas posições 6-OH e 6'-OH. (Molinier, Fitremann, Bouchu, & Queneau, 2004) Ésteres de sacarose mono substituídos foram produzidos com sucesso através da utilização de ésteres de vinil como agentes aciladores e na presença de fosfato hidrogenado disódico e o solvente utilizado foi o DMSO seco. (Cruces et al., 2001) A dissolução de 3-lauriltiazolidina-2-thiona e de sacarose em piridina anidra e a adição de ácido acético promoveu a formação de 80% de ésteres de sacarose mono-substituídos na posição do grupo hidroxilo 2-OH. (Chauvin et al., 1993).

2.2 Síntese enzimática

O emprego de altas temperaturas e de solventes tóxicos e a pobre seletividade dos compostos provenientes da síntese química de ésteres de ácidos gordos de sacarose promoveram o desenvolvimento da síntese enzimática. (Kennedy et al., 2006) As reações de esterificação e transesterificação catalisadas por enzimas são mais específicas às suas devido às suas capacidades de acilação régio-, quimio- e enantio-seletiva de açúcares, visto que a maioria das enzimas promove a acilação dos grupos hidroxilos da sacarose pela ordem descrita na figura 3.



Figura 3- Figura ilustrativa relativa à ordem de acilação dos grupos hidroxilos da sacarose. Adaptado de (Rich, Bedell, & Dordick, 1995).

Assim, as enzimas cada vez mais assumem um papel catalisador na síntese orgânica de uma vasta quantidade de compostos, devido à sua especificidade (Rich et al., 1995; Wong, Halcomb, Ichikawa, & Kajimoto, 1995) Na síntese enzimática de ésteres de ácidos gordos de sacarose, as lípases e as proteases são as enzimas convencionalmente utilizadas como catalisadores das reações de esterificação e transesterificação e estas podem ser extraídas de uma multiplicidade de fontes. (Polat & Linhardt, 2001) No entanto, bactérias como o *Bacillus subtilis*, *Candida antarctica*,

Bacillus licheniformis, *Rhizomucor miehei*, *Streptomyces* sp., *Chromobacterium viscosus* e o pâncreas suíno constituem as fontes principais destas enzimas. (Chang & Shaw, 2009; Koeller & Wong, 2001) As enzimas hidrolíticas exibem a particularidade de clivar as ligações éster de lípidos e outros compostos orgânicos, no entanto, as lipases e as proteases exibem especificidade para diferentes substratos. As lipases hidrolisam substratos insolúveis em água como os triglicéridos com cadeias longas de ácidos gordos. Por sua vez, as proteases hidrolisam ligações peptídicas entre proteínas. (Ballesteros et al., 2006) Esta classe de enzimas apresentam grande estabilidade à temperatura ambiente e em quando contacto com água e solventes apolares. (Koeller & Wong, 2001)

De acordo com a literatura disponível, as lipases são o grupo de enzimas mais utilizado na síntese enzimática de ésteres de ácidos gordos de sacarose. (Gupta, Gupta, & Rathi, 2004; Kennedy et al., 2006) A presença destas enzimas está largamente disseminada na Natureza, pois são produzidas por uma grande variedade de seres vivos, desde animais a microorganismos. No entanto, as lipases provenientes de fungos e bactérias são as mais utilizadas na síntese orgânica e noutros procedimentos biotecnológicos. (Gupta et al., 2004; Schmid & Verger, 1998) São enzimas que exibem grande estabilidade em solventes orgânicos e possuem especificidade para um amplo leque de substrato, bem como uma elevada seletividade. (Jaeger & Reetz, 1998)

Relativamente à região-seletividade destas enzimas, esta é variável. Está descrito que lipases provenientes de *Pseudomonas cepacia*, quando utilizadas na síntese de ésteres de sacarose na presença de piridina, promovem a acilação do grupo 6-OH. (Rich et al., 1995) As lipases de *Thermomyces lanuginosus* exibiram região-seletividade para o grupo hidroxilo 6-OH e houve a formação de mono-ésteres de sacarose, ao passo que as lipases B da *Candida Antarctica* promoveram a formação de mono e di-ésteres de sacarose. No entanto, a fração de ésteres di-substituídos foi maior, indicando assim, que estas lipases exibem região-seletividade tanto para o grupo hidroxilo 6-OH como para o 6'-OH. (Ferrer et al., 2005)

Tendo como substratos a sacarose e o ácido cáprico, as lipases obtidas de *Mucor miehei*, promoveram a formação predominante de 6-monocaprato de sacarose, exibindo região-seletividade para o grupo hidroxilo 6-OH. (Kim, Han, Yoon, & Rhee, 1998)

As proteases constituem outro grupo de enzimas vastamente utilizado na produção de ésteres de sacarose e outros procedimentos de síntese orgânica. São

enzimas catalisadoras que exercem a sua atividade em condições de reação brandas e a pH entre 6 e 8. (Bordusa, 2002) A sua régio-seletividade, tal como as lipases, é variada, mas a maioria destas enzimas é seletiva para o grupo hidroxilo 1'-OH da molécula da frutose constituinte da estrutura da sacarose. (Carrea, Riva, & Secundo, 1989; Foods & Broadway, 1994; Rich et al., 1995) As proteases obtidas do *Bacillus subtilis*, também conhecidas por subtilisinas, são proteases que têm estabilidade em solventes orgânicos. (Riva & Chopineau, 1988) Esta enzima foi utilizada na síntese de ésteres de sacarose na presença de DMF e promoveu a acilação do grupo hidroxilo 1'-OH da molécula de frutose existente na estrutura da sacarose. (Riva & Chopineau, 1988) Na produção de laurato de sacarose, uma protease alcalina proveniente do *Bacillus pseudofirmus* exibiu régio-seletividade para o grupo hidroxilo 2-OH. Os solventes utilizados foram o DMF e a piridina em volumes equivalentes e o mono-éster 2-laurato de sacarose foi obtido numa percentagem entre 50 e 60%. (Pedersen, Wimmer, Matthiesen, Pedersen, & Gessesse, 2003) Outra protease da família das subtilisinas foi utilizada na síntese de mono e di-ésteres de sacarose na presença de piridina. O produto obtido de maior abundância corresponde a mono-ésteres de sacarose e acilação ocorreu no grupo 6-OH. Porém, ocorreu a formação de outro mono-éster e de um di-éster de sacarose. A acilação ocorreu no grupo hidroxilo 1'-OH no caso do mono-éster formado e nos grupos hidroxilos 1'-OH e 6-OH, no caso do di-éster. (Polat, Bazin, & Linhardt, 1997) Ainda no que diz respeito ao emprego de proteases na síntese de ésteres de sacarose, uma protease alcalina extraída do *Bacillus amyloliquefaciens* demonstrou também ser régio-seletiva para os grupos hidroxilos 1'-OH e 6-OH, na síntese de butirato de sacarose. O produto obtido em maior quantidade foi o 1'-butirato de sacarose, seguido do 6-butirato de sacarose. (Rich et al., 1995)

Além das propriedades das enzimas, existem outros fatores que é necessário ter em consideração quando a execução das reações como a escolha do solvente a utilizar. (Paula, Barboza, & Castro, 2005) A água auxilia a enzima a manter a sua conformação ativa necessária à catálise e sem a sua presença, a enzima fica inativa. Como tal, os solventes apropriados para a síntese enzimática são os solventes apolares, pois são hidrofóbicos e não absorvem a água necessária à atividade das enzimas. (Gorman & Dordick, 1992)

Outro fator importante é a especificidade da enzima em relação ao substrato. Pedersen et al (2002) mostrou que o tamanho da cadeia de ácidos gordos tem influência

na eficiência de algumas enzimas aquando a catálise. A enzima utilizada foi uma lipase proveniente da *Candida Antarctica*, que mostrou ter elevada atividade para ácidos gordos com cadeias curtas e médias e esta diminui quando estão envolvidos na reação ácidos gordos de cadeia longa, devido ao impedimento estérico que estas provocam. Estudos mostram que o pH também constitui um fator relevante na síntese enzimática. Uma protéase alcalina utilizada na síntese de ésteres de sacarose foi colocada num meio cujo pH era de 6 e não houve catálise. No entanto, a pH entre 7 e 10, a enzima catalisou a síntese com sucesso e observou-se a produção de ésteres. (Pedersen et al., 2003) A síntese enzimática de ésteres de ácidos gordos de sacarose permite maiores especificidade e seletividade dos compostos, evita a degradação dos reagentes e produtos e promove a segurança aquando a utilização dos mesmos pela indústria alimentar. (Chang & Shaw, 2009; Kennedy et al., 2006; Paula et al., 2005)

2.3. Isolamento, Purificação e Análise

Existe uma vasta variedade de literatura e patentes disponíveis que descrevem diversos métodos de isolamento, purificação e análise dos ésteres de sacarose.

Na esterificação de poli-ésteres de sacarose, a purificação da mistura resultante da reação pode ser realizada através da lavagem com água e posterior adição de sais ou da lavagem com álcoois. (Schaefer & Trout, 2011) Ésteres de sacarose poli-substituídos podem ser purificados através de uma lavagem alcalina, ou seja, a solução de lavagem é composta por água com um pH aproximadamente de 12.5. (Van Lookeren, 1991) A aplicação de duas fases de purificação também é descrita, em que a mistura da reação contendo ésteres de sacarose é precipitada quando lavada por uma mistura composta por um álcool e água, sendo este precipitado recuperado através de técnicas como a centrifugação e a filtração, e posteriormente lavado com um solvente orgânico e recuperado através de destilação a vácuo. (Wagner, Dean, de la Motte, & Stryker, 1991) A destilação a vácuo é também descrita por D'Amato (1959) como um método de purificação de ésteres de sacarose presentes numa mistura de reação de pH neutro. Ésteres de sacarose podem ser purificados através da formação de uma emulsão por adição de água à mistura da reação e para separar os componentes da emulsão, solventes orgânicos são utilizados de acordo com o tamanho da cadeia dos ácidos gordos presentes na mistura. (Farone & Serfass, 1998) A aplicação destes solventes permite a separação de fases da emulsão por destilação, filtração ou decantação. (Farone & Serfass, 1998) Ésteres de sacarose poli-substituídos foram purificados através de arrefecimento, neutralizados com ácido acético, descolorados com carvão vegetal e posteriormente lavados com metanol, que removeu os ésteres metilo de ácidos gordos e os poli-ésteres de sacarose da mistura. (Akoh & Swanson, 1990) A adsorção seletiva também está descrita na literatura como um método de purificação de ésteres de sacarose, em que o barro branqueado foi utilizado como agente adsorvente e a reação ocorreu numa coluna de cromatografia. (Zeringue & Feuge, 1976)

Os ésteres de sacarose obtidos pelas sínteses química e enzimática, por norma, são analisados e através de cromatografia em camada fina (Park, Jeon, & Yang, 1999; Polat et al., 1997), cromatografia líquida de alta pressão (Ferrer et al., 1999; Janssen, Lefferts, & van't Riet, 1990) e cromatografia gasosa. (Mima & Kitamori, 1956; Park &

Chang, 2000; Wagner et al., 1991) As cromatografias de camada fina e líquida de alta pressão foram utilizadas por Seino, Uchibori, Nishitani, & Inamasu, (1984) com o intuito de analisar e separar ésteres de sacarose produzidos por síntese enzimática. O produto foi separado por duas extrações seguidas com clorofórmio e tetrahidrofurano, respectivamente, e por uma cromatografia de permeação de gel.

A separação de mono- e di-ésteres de sacarose, constituídos por ácidos gordos com uma cadeia de 12 a 18 carbonos, foi efetuada através de cromatografia em coluna, onde a sílica gel foi utilizada como adsorvente e os mono e di-ésteres foram eluídos com n-butanona saturada de água e n-butanona seca, respectivamente. (Gupta, James, & Smith, 1983) De seguida, os mesmos ésteres de sacarose foram submetidos a cromatografia em camada fina e a cromatografia gasosa, com o intuito de serem separados e analisados. (Gupta et al., 1983) Uma técnica foi desenvolvida para a análise de ésteres de sacarose mono e di-substituídos por cromatografia líquida de alta pressão, onde foram utilizadas colunas de fase reversa e os eluentes aplicados para os mono- e di-ésteres foram misturas de metanol e água e de metanol, água e acetato de etilo, respectivamente. (Jaspers, van Leeuwen, Nieuwenhuis, & Vianen, 1987) A separação de poli-ésteres de sacarose também pode ser realizada através de cromatografia líquida capilar, em que a injeção separadora é utilizada para reter o soluto no topo da coluna e a detecção dos mesmos foi realizada com o auxílio de capilares separadores e de um detetor de ionização. (Chester & Owens, 1985) Além destes métodos, a separação dos ésteres de sacarose pode ser efetuada através de lavagens com uma mistura de água e um álcool. (Wagner et al., 1991)

3. Ésteres de sacarose e as suas propriedades físico-químicas

Os ésteres de sacarose são compostos anfifílicos, ou seja, contêm na sua estrutura uma porção hidrofílica, representada pela sacarose, e uma porção lipofílica, representada pelos ácidos gordos, sendo que a sua estrutura molecular geral está ilustrada na figura 4. (Cruces et al., 2001; Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Otomo, & Szabó-Révész, 2010; Szűts, Pallagi, Regdon Jr, Aigner, & Szabó-Révész, 2007) São surfactantes não-iónicos que podem ser sintetizados a partir de matérias-primas renováveis existentes na Natureza. (Soultani, Ognier, Engasser, & Ghoul, 2003; Szűts, Makai, Rajkó, & Szabó-Révész, 2008)

Os ésteres de sacarose podem apresentar diferentes valores de Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) consoante o número de carbonos que a cadeia de ácidos gordos apresentar, (Soultani et al., 2003) a natureza e número de ácidos gordos existente na estrutura do éster (Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Otomo, et al., 2010) e o seu ponto de fusão, (Csóka, Marton, Zelko, Otomo, & Antal, 2007) e o facto de estes compostos exibirem uma vasta gama de EHL, permite que sejam utilizados numa pluralidade de aplicações farmacêuticas. (Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Ambrus, et al., 2010) Além dos valores de EHL, também as suas propriedades físico-químicas são afetadas pela natureza dos ácidos gordos existentes na estrutura do éster e pelo grau de esterificação da sacarose. Assim, dependendo dos fatores acima descritos, os ésteres de sacarose podem assumir diferentes aspetos quando à temperatura ambiente, sendo alguns líquidos, sólidos ou de aspeto ceroso. (Szűts & Szabó-Révész, 2012)

Os mono-ésteres de sacarose, como possuem uma cadeia de carbonos curta, exibem boa solubilidade em água, ao passo que ésteres de sacarose di- ou poli-substituídos são insolúveis em água, devido ao comprimento da cadeia de carbonos que apresentam. (Szűts & Szabó-Révész, 2012) Os ésteres de sacarose lipofílicos, ou seja, com baixos valores de EHL, exibem baixos pontos de fusão, entre 40 e 79 °C e fundem-se completamente, ao passo que os ésteres de sacarose hidrofílicos, ou seja, com elevados valores de EHL, apenas amolecem (Szűts et al., 2007) Um estudo demonstrou que um estearato de sacarose composto por poliésteres de ácido esteárico fundiu-se

completamente quando aquecido, ao passo que estearatos de sacarose compostos por uma elevada quantidade de mono-ésteres de ácido esteárico, sofreram apenas um amolecimento, apresentando uma forma semi-sólida (Heng, Wong, & Cheong, 2003)

Vários autores afirmam que os ésteres de sacarose exibem propriedades espumantes e estudos foram conduzidos no sentido de avaliar a capacidade de formação de espuma de vários ésteres. De facto, dois lauratos de sacarose mono-substituídos nos grupos hidroxilo 6-OH e 6'-OH, um di-laurato de sacarose, uma mistura constituída por mono e di-laurato de sacarose, numa proporção molar de 4:1 e o laurato de sacarose comercial L-169 foram utilizados num estudo com o intuito de serem avaliados em relação às suas propriedades espumantes e indicaram que tanto o 6-monolaurato de sacarose como o 6'-monolaurato de sacarose e o L-169 apresentaram boas capacidades de formar espuma, exibindo valores máximos de espumabilidade, aproximadamente de, 70 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 75 $\mu\text{S}/\text{cm}$, a concentrações de 300 μM e 200 μM respetivamente. (Husband, Sarney, Barnard, & Wilde, 1998) No entanto, o valor de espumabilidade do L-169 foi mais elevado que o valor exibido pelos dois monolauratos de sacarose. O laurato de sacarose di-substituído, por sua vez, revelou ser o composto com menor capacidade de formação de espuma, sendo que o seu valor máximo de espumabilidade foi de 20 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a uma concentração de 300 μM , ao passo que, a mistura contendo por mono e di-laurato de sacarose foi o composto que exibiu maior capacidade de formação de espuma, sendo que os seus valores de espumabilidade foram registados entre 60 e 80 $\mu\text{S}/\text{cm}$, num intervalo de concentrações entre os 100 e os 600 μM . Em relação, à estabilidade da espuma, a mistura de mono e di-laurato de sacarose e o éster comercial L-169 exibiram percentagens de 80%, ao passo que, os compostos exibiram percentagens inferiores.

Além de possuírem propriedades espumantes, os ésteres de sacarose exibem a capacidade de formarem geles. O palmitato de sacarose, com EHL de 16, e o estearato de sacarose, com o EHL de 9, revelaram possuir boa capacidade de formação de geles, quando em contacto com água, contudo, o estearato de sacarose exibiu maior capacidade comparativamente com o palmitato de sacarose. (Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Otomo, et al., 2010) Outro estudo foi conduzido com o objetivo de estudar as capacidades de formação de geles de quatro estearatos de sacarose hidrofílicos, com valores de EHL de 9, 11, 15 e 16 e os autores concluíram que a temperatura de fusão depende, por sua vez, da concentração do éster de sacarose presente, na medida em que quanto maior for a concentração, menor é a temperatura de geleificação. Também observaram que o estearato de sacarose com o valor de EHL de 9 foi o éster que formou

geles mais fortes, ao passo que o estearato de sacarose com o valor de EHL de 16 revelou formar geles mais fracos. (Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Ambrus, et al., 2010)

Como foi referido anteriormente, os ésteres de sacarose são surfactantes não-iônicos e, como tal, necessitam de exibir a capacidade de diminuir a tensão superficial da água e de formação de micelas quando estão presentes em concentrações correspondentes à concentração micelar crítica (CMC), bem como a capacidade de diminuir a tensão interfacial do sistema onde estão inseridos. (Schramm, Stasiuk, & Marangoni, 2003) Existem vários estudos que confirmam as propriedades surfactantes de vários ésteres de sacarose. Por exemplo, Garofalakis, Murray, & Sarney (2000) estudaram as capacidades surfactantes dos mono-miristato, mono-palmitato e mono-laurato de sacarose produzidos através da síntese enzimática e compararam-nos com as capacidades surfactantes do miristato de sacarose comercial M-1695. Os autores observaram que todos os ésteres de sacarose estudados diminuíram, com êxito, a tensão superficial da água e formar micelas, quando presentes em concentrações iguais à sua CMC, sendo que o mono-laurato de sacarose foi o éster que evidenciou a maior redução na tensão superficial da água, seguido do mono-miristato de sacarose. O mono-palmitato de sacarose, por sua vez, foi o éster menos eficaz na redução da tensão superficial da água. Perante estes resultados, os autores constataram que o tamanho da cadeia de carbonos afeta a redução da tensão superficial da água, na medida em que, quanto maior for a cadeia de carbonos, menor é a capacidade dos ésteres de sacarose de reduzirem a tensão superficial.

As propriedades surfactantes dos ésteres mono-laurato, mono-palmitato, di-laurato e di-palmitato de sacarose também foram estudadas por Ferrer et al. (2002) e os seus resultados também revelaram que estes compostos diminuem, com sucesso, a tensão superficial da água e são capazes de formar micelas em ambiente aquoso, sendo que o mono-laurato de sacarose foi o éster que exibiu maior redução da tensão superficial da água e o valor mais baixo da CMC. Os ésteres di-substituídos demonstraram menor capacidade de reduzir a tensão superficial da água e um valor mais elevado de CMC e os autores concluíram que a redução da tensão superficial da água depende do tamanho da cadeia de carbonos e do grau de substituição. Em relação à diminuição da tensão interfacial, os ésteres avaliados foram introduzidos num sistema bifásico, composto por água e xileno, e foi observado que todos os ésteres reduziram a tensão superficial do sistema. No entanto, o mono-palmitato de sacarose potenciou uma maior redução da tensão interfacial do que o mono-laurato de sacarose. Os autores

defendem que o mono-palmitato, por possuir uma cadeia de carbonos maior do que o mono-laurato, permitiu uma redução da tensão interfacial mais acentuada devido às interações lipofílicas que, por sua vez, diminuíram a área interfacial.

É importante referir que tanto a CMC como a diminuição da tensão superficial são afetadas por fatores como o tamanho da cadeia de carbonos dos ésteres de sacarose e o seu grau de esterificação, na medida em que, quanto maior for a cadeia de carbonos e o seu grau de esterificação, menor será a CMC e menor será a tensão superficial observadas. (Soultani et al., 2003)

Por serem insípidos, inodoros, biodegradáveis, não apresentarem toxicidade e devido à vasta gama de valores de EHL e de propriedades que podem exibir, os ésteres de sacarose são utilizados na produção e formulação de cosméticos, géneros alimentícios, produtos químicos e empregados em diversas aplicações farmacêuticas, estando algumas destas aplicações ilustradas na tabela 2, bem como os respetivos valores de EHL recomendados. (Chang & Shaw, 2009; Soultani et al., 2003; Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Otomo, et al., 2010; Szűts et al., 2008; Szűts & Szabó-Révész, 2012)

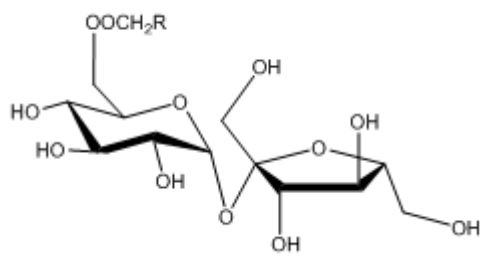


Figura 4- Representação ilustrativa da estrutura molecular geral dos ésteres de sacarose. Adaptado de (Silva, 2012).

Tabela 2- Valores de EHL recomendados para diferentes aplicações farmacêuticas. Adaptado de (Szűts & Szabó-Révész, 2012)

Aplicação	Valores de EHL recomendados
Emulsificação	Baixo a Elevado
Solubilização	Elevado
Melhoria de dissolução	Elevado
Libertação controlada ou prolongada	Baixo a Elevado
Promoção da absorção/penetração	Elevado
Lubrificação	Baixo a Médio
Desintegração	Elevado

4. Toxicidade e metabolismo

Em 2004, a EFSA (*European Food Safety Authority*) estabeleceu um valor de ingestão diária aceitável (IDA) de 40mg/kg de peso corporal por dia para os ésteres de sacarose, utilizados como aditivos alimentares (E473), alterando, assim, os valores de IDA estabelecidos, em 1992, pelo SCF (*Scientific Committee for Food*) de 0-20mg/kg de peso corporal por dia. Assim, devido à utilização de ésteres de sacarose pela indústria alimentar, vários estudos foram realizados com intuito de avaliar a toxicidade crónica, carcinogenicidade e o metabolismo destes compostos.

Dois estudos foram realizados, com durações de 13 semanas e 2 anos com o objetivo de avaliarem se o éster de sacarose S-570 possuía toxicidade crónica e carcinogenicidade em ratos Fischer 344/DuCrj. Estes estudos duraram 13 semanas e 2 anos e, durante estes períodos de tempo, diferentes grupos de ratos Fischer 344/DuCrj ingeriram S-570, em quantidades correspondentes a 0, 1, 3 e 5% (p/p) da sua dieta diária. (Takeda & Flood, 2002) Os resultados obtidos revelaram que o S-750 não exibiu toxicidade nem carcinogenicidade e não foram observados efeitos ao nível hematológico, oftálmico e ao nível do peso dos órgãos. Necrose dos tecidos e outras alterações histológicas, como a formação de tumores, também não foram observadas.

Dois outros estudos foram realizados, no sentido de avaliar potenciais carcinogenicidade e toxicidade crónica do éster de sacarose S-170 em ratos F344, através da sua ingestão diária. (Yoshida, Katsuda, Nakae, & Maekawa, 2004) O estudo sobre a toxicidade crónica foi conduzido num período de 12 meses, ao passo que, o estudo sobre a carcinogenicidade durou dois anos e os resultados obtidos relevaram que o éster S-170 não exibiu toxicidade nem possuir atividade carcinogénica.

Além da toxicidade e carcinogenicidade, o metabolismo dos ésteres de sacarose também foi estudado. Ésteres mono e di-substituídos, provenientes da gordura de bovinos, foram marcados pelo 14-C, um isótopo radioativo, e foram introduzidos na dieta de três humanos e administrados por via oral ou intravenosa em ratos. (Daniel, Marshall, Jones, & Snodin, 1979) Os autores concluíram que os ésteres de sacarose analisados foram hidrolisados em sacarose e ácidos gordos, antes de serem absorvidos. Assim, os ésteres de sacarose revelaram que não se acumulam nos tecidos, devido à facilidade com que sofrem hidrólise.

Noker, Lin, Hill, & Shigeoka (1997) estudaram a absorção de estearatos de sacarose tetra, hepta e octa-substituídos marcados com 14-C, com o intuito de avaliar o seu metabolismo em ratos. Os resultados evidenciaram que o grau de esterificação dos ésteres avaliados tem influência na absorção e metabolismo dos mesmos, sendo que o tetra-estearato de sacarose sofreu maior absorção no intestino, comparativamente com os estearatos de sacarose hexa e octa-substituídos. No entanto, tal como foi evidenciado no estudo anteriormente mencionado, os estearatos de sacarose estudados sofreram hidrólise antes da sua absorção, sendo que a hidrólise depende da solubilidade dos compostos, que por sua vez, é dependente do grau de esterificação da sacarose e do comprimento das cadeias dos ácidos gordos envolvidos.

5. Aplicações farmacêuticas dos ésteres de sacarose

5.1 Emulsificação e estabilização de emulsões e de microemulsões

As emulsões são sistemas heterogêneos termodinamicamente instáveis, constituídos por dois líquidos imiscíveis, em que um, a fase interna, encontra-se finamente disperso no seio do outro, a fase externa. As emulsões dividem-se em duas categorias: emulsões água em óleo (A/O) e emulsões óleo em água (O/A) e podem sofrer vários fenómenos de instabilidade como a sedimentação das partículas, floculação, cremagem, coalescência e, por consequência, a separação de fases. (Tadros, 2009) Como tal, para que ocorra a dispersão de dois líquidos imiscíveis e para garantir a estabilidade da emulsão é necessário recorrer ao emprego de surfactantes.

Os surfactantes são compostos que exibem um grupo hidrofílico e um grupo lipofílico na sua estrutura, o que lhes permite diminuir a tensão interfacial dos dois líquidos e estão divididos em surfactantes catiónicos, iónicos, não-iónicos e anfotéricos. (Salager, 1988) A diminuição da tensão superficial ocorre quando as moléculas de surfactante substituem as moléculas do líquido à superfície, ao passo que, a diminuição da tensão interfacial nas emulsões, deve-se ao facto de os surfactantes possuírem a capacidade cobrir a superfície das partículas dispersas, tornando-as mais solúveis na fase externa. No entanto, a redução da tensão interfacial de uma solução é mais complexa que a redução da tensão superficial, pois nesta não existem duas fases líquidas. (Walstra, 1993)

Os surfactantes, como são constituídos por moléculas anfifílicas, ao estarem inseridos num meio aquoso, as porções lipofílicas das suas moléculas, agregam-se e expõem a porção hidrofílica, formando uma estrutura denominada de micela. O mesmo acontece, quando inseridos em meio oleoso, sendo que neste caso, são as porções hidrofílicas das moléculas que se agregam, expondo as porções lipofílicas. A concentração a que este fenómeno ocorre denomina-se de concentração micelar crítica. (Daltin, 2011) Os surfactantes hidrofílicos, ou seja, surfactantes que exibem valores elevados de EHL, geram emulsões O/A, ao passo que surfactantes lipofílicos, cujos valores de EHL são baixos, originam emulsões A/O. (Fanun, 2009a)

Os ésteres de sacarose, como foi referido anteriormente, são surfactantes não-iónicos, ou seja, além de possuírem na sua composição uma porção hidrofílica e uma

porção lipofílica, não apresentam carga na sua estrutura e a estabilização de emulsões ocorre devido ao impedimento estérico provocado pelo tamanho das suas moléculas. (Daltin, 2011; Tadros, 2009) A sua aplicação como emulgentes e estabilizadores de emulsões está vastamente disseminada pelas várias indústrias, devido a abundante utilização de emulsões na produção de géneros alimentícios, cosméticos e produtos farmacêuticos e diversos estudos sobre as suas propriedades emulgentes foram realizados. (Bibette & Leal-Calderon, 1996)

De facto, além dos estudos mencionados anteriormente, Akoh (1992) também avaliou as propriedades emulgentes de alguns poli-ésteres de sacarose, como o poli-oleato de sacarose e ésteres comerciais S-170, S-570, S-970 e o S-1670, individualmente e quando estes foram misturados. O S-1670 foi o éster que provocou a maior redução da tensão interfacial da solução composta por água e xileno e da tensão superficial da água, ao passo que o S-170 demonstrou ser o menos eficaz na redução de ambas as tensões. O autor verificou que, tanto o éster S-1670 como a mistura de S-1670 e S-170 revelaram ser bons estabilizadores das emulsões O/A e A/O onde estavam inseridos, sendo que o S-1670 revelou promover a estabilidade da emulsão O/A cerca de 56% após 50 horas. A mistura de S-1670 e S-170, por sua vez, promoveu a estabilidade de 70% após 50 horas da emulsão O/A, ao passo que estabilização da emulsão O/A promovida pela mistura rondou os 93% às 24 horas, diminuindo para 80% às 50 horas. Por outro lado, com a utilização do éster S-170, o autor observou uma estabilidade da emulsão A/O de 94% nas primeiras 8 horas, sendo que a percentagem de separação de fases aumentou para 50% passado 24 horas. Perante os resultados, o autor concluiu que ésteres de sacarose com valores de EHL elevados, ou seja, de carácter hidrofílico são mais adequados e eficazes na emulsificação e estabilização de emulsões.

Além de os ésteres de sacarose serem utilizados na produção de emulsões, o seu emprego como surfactantes em microemulsões também está documentado. (Fanun, 2009b, 2010; Garti, Clement, Leser, Aserin, & Fanun, 1999; Thevenin, Grossiord, & Poelman, 1996) As microemulsões são dispersões A/O ou O/A isotrópicas, transparentes e termodinamicamente estáveis. (Hoar & Schulman, 1943) São estabilizadas por surfactantes anfífilicos associados a co-surfactantes, apresentam baixa viscosidade e o tamanho das suas partículas varia entre 5 e 100 nanómetros (nm). (Moulik & Paul, 1998) Comparativamente com as emulsões, as microemulsões exibem maior estabilidade, o tamanho das suas partículas é menor e são opticamente transparentes. (Fanun, 2009a; Oliveira, Scarpa, Correa, Cera, & Formariz, 2004) Outra característica

das microemulsões é o facto de estas poderem apresentar quatro fases diferentes segundo a classificação de Winsor. A fase I representa microemulsões O/A que coexistem com o excesso de fase oleosa, ao passo que a fase II representa microemulsões A/O que coexistem com o excesso de fase aquosa. Por sua vez, a fase III, também conhecida como fase bicontínua, representa microemulsões que coexistem no meio e ambas as fases em estão em excesso e a fase IV representa microemulsões de fase única e homogénea. (Mehta & Kaur, 2001) Porém, as microemulsões apresentam como desvantagem a necessidade de conterem, na sua composição, elevadas percentagens de surfactante, devido ao tamanho reduzido das suas partículas e à elevada tensão superficial que exibem. (Bolzinger-Thevenin, Grossiord, & Poelman, 1999)

Thevenin et al. (1996) estabeleceram que os ésteres de sacarose por si só, não são capazes de formar microemulsões estáveis e que o emprego de um co-solvente é imperativo. Os autores escolheram os ésteres de sacarose descritos na tabela 3 para serem avaliados relativamente às suas propriedades emulgentes na presença de co-solventes. Além dos ésteres de sacarose descritos na tabela 3, os autores também avaliaram as propriedades emulgentes de quatro misturas constituídas por laurato e di-laurato de sacarose, com valores de EHL de 7, 9, 11 e 13. O etanol foi um dos co-solventes escolhidos para ser adicionado aos sistemas estabilizados pelo mono-laurato de sacarose, pelo di-laurato de sacarose, pelo oleato de sacarose e pelas misturas constituídas por laurato e di-laurato de sacarose. No entanto, além do etanol, os autores adicionaram outros co-solventes como o propanol, isopropanol, butanol, pentanol, hexanol e heptanol aos sistemas estabilizados pelo oleato de sacarose, de forma a avaliarem a influência que estes exercem na formação de microemulsões. Os autores concluíram que todos os ésteres estudados conjuntamente com o etanol, à exceção dos estearatos e do palmitato de sacarose, permitiram a formação de microemulsões estáveis e adequadas para serem utilizadas no âmbito da tecnologia farmacêutica. Os resultados também revelaram que a utilização conjunta do oleato de sacarose dos diversos álcoois como co-surfactantes permitiu uma solubilização de grandes quantidades de água e a formação de uma fase única estável, sendo que o propanol e o butanol foram os co-solventes que permitiram a formação de microemulsões mais estáveis. Os autores também observaram que a mistura de laurato de sacarose e di-laurato de sacarose de EHL de 7, foi a mistura que promoveu a maior redução interfacial e a formação de microemulsões mais estáveis.

Outros autores também estudaram a capacidade dos ésteres de sacarose de formação de microemulsões. Por exemplo, está descrito na literatura que a aplicação de uma mistura de surfactantes não-iônicos constituída pelo laurato de sacarose comercial L-1695 e pelo mono-di-glicérido etoxilado permitiu a produção de uma microemulsão biocompatível, cuja fase oleosa era constituída pelo R(+)-limoneno. (Fanun, 2010) O mesmo autor descreve a formação de uma outra microemulsão estável, cuja fase oleosa era composta por óleo de hortelã-pimenta e miristato de isopropilo, através da utilização da mistura de surfactantes não-iônicos anteriormente referida. (Fanun, 2009b)

Além das suas propriedades emulgentes, os ésteres de sacarose são aplicados como surfactantes na formação de microemulsões devido à sua insensibilidade à temperatura, ou seja, diferenças de temperatura não alteram o seu comportamento surfactante e a sua capacidade solubilizante, nem o valor de EHL que apresentam. (Garti, Aserin, & Fanun, 2000; Glatter et al., 2001) Por estas razões, alguns estudos descrevem a formação de microemulsões através do emprego de ésteres de sacarose como surfactantes e de álcoois etoxilados como co-surfactantes e os resultados obtidos demonstraram que os ésteres de sacarose são surfactantes adequados para a produção de microemulsões insensíveis à temperatura. (Kunieda, Ushio, Ano, & Miura, 1993; Oh, Baran, Wade, & Weerasooriya, 1995; Pes, Aramaki, Nakamura, & Kunieda, 1996)

As microemulsões são sistemas importantes no âmbito da indústria farmacêutica pois promovem a solubilidade, dissolução e absorção de vários fármacos e podem servir de veículos de administração de fármacos tópica, transdérmica, oftálmica, oral e parentérica, bem como de sistemas de modulação da libertação de fármacos. (Paul & Moulik, 2001) Os ésteres de sacarose exibem boa compatibilidade com a pele e são compostos não-tóxicos e, apesar de existirem vários estudos sobre a sua aplicabilidade como surfactantes em microemulsões, o mesmo não se verifica sobre a utilização de microemulsões estabilizadas por ésteres de sacarose como sistemas de administração de fármacos.

Contudo, a literatura refere o emprego do mono- e do di-laurato de sacarose na formulação de microemulsões destinadas à administração tópica do ácido niflúmico. (Bolzinger, Thevenin, Carduner, & Poelman, 1998) Ambos os ésteres foram incorporados na formulação de quatro microemulsões contendo 0, 0.3, 0.6 e 1% (p/p) de ácido niflúmico e foram investigados e comparados com a formulação comercial Nifluril® relativamente à capacidade de promoverem a penetração do fármaco. Ao comparar a microemulsão formulada por 1% de ácido niflúmico, com a formulação

comercialmente disponível, os autores concluiu que o sistema preparado era tão eficiente na libertação tópica do princípio ativo como a formulação comercial. No entanto, a ação anti-inflamatória do ácido niflúmico ocorreu após 16 minutos da administração e autor justifica este facto com a pobre solubilidade do princípio ativo nas fases oleosa e aquosa.

Tabela 3- Tabela representativa dos ésteres de sacarose utilizados por Thevenin et al. (1996)

Surfactante	Valor do EHL
Mono-laurato de sacarose	16
Di-laurato de sacarose	5
Miristato de sacarose	16
Palmitato de sacarose	15
Estearato de sacarose	7
Estearato de sacarose	9
Estearato de sacarose	11
Estearato de sacarose	15
Oleato de sacarose	15

5.2. Niossomas e administração transdérmica de fármacos

A pele é o maior órgão do corpo humano e desempenha um papel fundamental na proteção do nosso organismo contra agressões externas e na manutenção da hidratação do mesmo. (Trommer & Neubert, 2006) A administração transdérmica de fármacos exhibe diversas vantagens em comparação com a administração oral, pois aumenta a biodisponibilidade dos fármacos, ao evitar os efeitos do metabolismo ao nível gastrointestinal, permite uma administração constante e controlada dos fármacos e aumenta a adesão terapêutica dos doentes por ser uma via de administração simples. (Pirvu, Hlevca, Ortan, & Razvan, 2010) Porém, a principal estrutura que oferece resistência à passagem dos fármacos através da pele é a camada mais superficial constituinte da epiderme, o *stratum corneum*. (Michaels, Chandrasekaran, & Shaw, 1975) Este é constituído por células epidérmicas mortas, queratinizadas e desidratadas, os corneócitos, que estão ligados entre si por lípidos organizados em lamelas e são estes compostos os responsáveis pela impermeabilidade do *stratum corneum* aos fármacos e outras moléculas. (Wiechers, 1989) Como tal, várias técnicas foram desenvolvidas no sentido de promover a penetração de fármacos através da pele e aumentar a permeabilidade do *stratum corneum*, sendo a utilização de vesículas como promotores da penetração transdérmica de fármacos uma delas. (Schreief, 1994)

As vesículas são partículas esféricas compostas por uma bicamada de moléculas anfífilas, sendo que a porção hidrofílica das moléculas permite a encapsulação de fármacos e de moléculas hidrofílicas no interior da vesícula, e a porção lipofílica forma a camada exterior da vesícula e o transporte de moléculas lipofílicas ocorre devido as interações estabelecidas entre si. (Honeywell-Nguyen & Bouwstra, 2005) O seu estado físico afeta a sua atividade promotora de penetração na administração de fármacos, sendo que as vesículas líquidas exibem maior capacidade de penetração e transporte de fármacos, quando comparadas com vesículas gelificadas. (van Kuijk-Meuwissen, Junginger, & Bouwstra, 1998)

As vesículas são formuladas com o auxílio de aditivos membranares como o colesterol, que confere maior estabilidade ao alterar a fluidez da bicama e impede que estas se agreguem entre si. (Ekambaram, Sathali, & Priyanka, 2012) Além do seu estado físico, vários autores afirmam que as vesículas elásticas são mais efetivas na administração transdérmica de fármacos, do que as vesículas rígidas. (Cevc & Blume,

2001; Cevc & Blume, 2003; Jain, Jain, Umamaheshwari, & Jain, 2003; Touitou, Dayan, Bergelson, Godin, & Eliaz, 2000) Dependendo dos seus constituintes, existem vários tipos de vesículas, rígidas e elásticas, como os lipossomas, os niossomas, os etossomas, os transferossomas, entre outros. (Prasanthi & Lakshmi, 2012)

Os niossomas são vesículas constituídas por surfactantes não-iônicos, que promovem a penetração transdérmica de compostos devido à sua capacidade de interagir com as membranas biológicas, aumentando a sua fluidez e alterando reversivelmente a conformação dos lípidos intercelulares, tornando-os mais permeáveis (Park, Chang, Hahn, & Chi, 2000) e a sua estrutura está representada na figura 5. São formados por moléculas anfifílicas em meio aquoso e a sua capacidade de encapsulação de moléculas depende de vários fatores como o glúcido que constitui a parte hidrofílica, o tamanho da cadeia alquilo, a natureza do fármaco encapsulado, o valor de EHL do surfactante e a necessidade de adição de colesterol. (Uchegbu & Vyas, 1998)

Os ésteres de sacarose promovem a penetração e administração transdérmica de fármacos devido à sua capacidade de aumentarem a fluidez do *stratum corneum* através da sua penetração nas suas estruturas intercelulares e da remoção dos seus lípidos constituintes (Lerk & Sucker, 1993a) e devido à sua cadeia de carbonos e à sacarose que interagem com as porções lipofílicas e hidrofílicas da bicamada fosfolipídica da pele, respetivamente. (Ayala-Bravo et al., 2003) A preparação de vários niossomas com ésteres de sacarose na sua formulação é vastamente referida na literatura. Por exemplo, niossomas elásticos e rígidos, constituídos pelo laurato de sacarose comercial L-1595 e pelo PEG-8-L foram avaliados em relação à sua capacidade de promoverem a penetração *in vitro* da pergolida através da pele humana. (Honeywell-Nguyen, Frederik, Bomans, Junginger, & Bouwstra, 2002) A pergolida foi encapsulada em cinco niossomas, rígidos e elásticos, compostos por frações molares de L-595/ PEG-8-L/sulfossucinato de 100/0/10, 90/10/10, 70/30/5, 50/50/5 e 0/100/0 respetivamente, e em soluções micelares de PEG-8-L, e os autores avaliaram a capacidade dos mesmos de transportar e de alterar da permeação cutânea. A formulação que permitiu o transporte de maior quantidade de pergolida, revelou a melhor estabilidade e a melhor solubilização do fármaco foi o niossoma constituído por 70/30 de L-595 e de PEG-8-L, respetivamente.

Niossomas elásticos contendo na sua formulação uma fração molar de 50/50/5 L-595/PEG-8-L/sulfossucinato foram utilizados em mais dois estudos com o intuito de

verificar as suas capacidades de transporte e promoção da penetração *in vitro* da pergolida (Honeywell-Nguyen & Bouwstra, 2003) e da rigotina (Honeywell-nguyen, Arenja, & Bouwstra, 2003) através da pele e de estabelecer os seus mecanismos de ação.

Tavano et al. (2010) produziram seis niossomas constituídos por cocoato de sacarose, obtido através da esterificação química entre a sacarose e o óleo de coco, dois sem a adição de colesterol, dois com uma percentagem de colesterol na sua formulação de 27% e outros dois com uma percentagem de 45% e conduziram um estudo para verificar a viabilidade dos mesmos como promotores da penetração cutânea do diclofenac e da sulfadiazina. O estudo foi realizado em células da epiderme de coelho e os resultados demonstraram que todos os niossomas foram capazes de promover a permeação do diclofenac e da sulfadiazina, sendo que os autores consideraram os niossomas com 29.5mg de cocoato de sacarose e 112 mg de colesterol, a formulação ideal para o transporte e libertação de fármacos, visto que constataram o colesterol a partir de certas quantidades, inibe a libertação de fármacos.

Na preparação de niossomas destinados à administração transdérmica da sulfadiazina de sódio, Muzzalupo et al. (2011) estudaram *in vitro* as propriedades estabilizantes de alguns surfactantes, incluindo o cocoato de sacarose TEGOSOFT LSE 65 K®, bem como o seu potencial como promotor da permeação da pele de coelho do fármaco em questão. Os autores preparam niossomas, uma solução sub-micelar de surfactante, e três soluções de sulfadiazina de sódio, uma solução-controlo, uma solução que foi colocada em contato com a pele após um pré-tratamento com niossomas vazios e outra solução que foi colocada em contato com a pele após um pré-tratamento com a solução sub-micelar de cada surfactante. Os resultados demonstraram que, de todas as formulações, os niossomas foram o sistema que permitiu maior permeação da sulfadiazina de sódio através da pele e que, tanto a solução sub-micelar de surfactante como as duas soluções colocadas em contato com a pele após os pré-tratamentos potenciaram uma permeação do fármaco inferior à permeação promovida pela solução controlo. O cocoato de sacarose TEGOSOFT LSE 65 K® foi o surfactante que produziu niossomas de tamanho mais reduzido e que lhes conferiu maior estabilidade, porém, exibiu fraca eficiência de encapsulação, facto que os autores justificam com a pobre afinidade da sulfadiazina de sódio com a matriz dos niossomas.

O emprego de vários ésteres de sacarose, com diferentes tamanhos de cadeias de carbonos, também é referido na produção de niossomas, num estudo *in vivo* relativo à veiculação na administração tópica da enzima catalase e os autores afirmam que estes surfactantes permitiram o desenvolvimento de sistema seguro de administração tópica da enzima. (Abdel-Mageed et al., 2012)

Os proniossomas são, segundo Hu & Rhodes (2000) “um produto granular seco e fluído que, após a adição de água, dispersa-se e forma uma suspensão de niossomas multilamelar” e estes autores defendem que a sua utilização permite contornar alguns problemas de instabilidade física que ocorrem aquando o armazenamento dos niossomas, como a agregação e o vazamento. Existem vários estudos que mencionam a utilização dos proniossomas na administração transdérmica de vários fármacos e os autores destes estudos concluíram que os proniossomas são sistemas alternativos adequados à administração transdérmica de fármacos. (Alsarra, Bosela, Ahmed, & Mahrous, 2005; A. Gupta, Prajapati, Balamurugan, Bhatia, & Singh, 2007; R. Thakur et al., 2009; Vora, Khopade, & Jain, 1998)

Além desta via de administração, os proniossomas foram também testados quanto a sua aplicação na administração da cromolina de sódio por nebulização. (Abd-Elbary, El-Laithy, & Tadros, 2008) Neste estudo, os autores prepararam niossomas a partir de proniossomas e niossomas a partir do método da evaporação de fase reversa, com o emprego do estearato de sacarose D18-11 e do estearato de sacarose D18-16 como surfactantes, e foram avaliados em relação ao seu tamanho, eficiência de encapsulação, estabilidade física, capacidade de libertação *in vitro* do fármaco e eficiência de nebulização. A suspensão de niossomas preparado a partir de proniossomas formados pelo estearato de sacarose D18-16 (PN D18-16) promoveu uma maior libertação da cromolina de sódio do que a suspensão de niossomas preparados a partir de proniossomas formados por estearato de sacarose D18-11 (PN D18-11) e os niossomas convencionais, que apresentaram capacidades de libertação mais baixas e semelhantes entre si. Relativamente ao tamanho e à eficiência de encapsulação, ambas as suspensões revelaram o tamanho mais reduzido e melhor eficiência de encapsulação, sendo que a NP D18-11 revelou uma eficiência de encapsulação melhor do que a PN D18-16. Em relação à eficiência de nebulização, ambas as suspensões de niossomas apresentaram os valores mais elevados, comparativamente com os niossomas convencionais, sendo que a PN D18-16 revelou a percentagem mais elevada. Ambas as

suspensões também demonstraram maior estabilidade após o seu armazenamento durante 90 dias, comparativamente com os niossomas convencionais,

A possível administração transdérmica da vinpocetina através de proniossomas constituídos por ésteres de sacarose também foi estudada. (El-Laithy, Shoukry, & Mahran, 2011) Os autores escolheram os estearatos de sacarose comerciais S-1670, S-970 e S-370, o palmitato de sacarose comercial P-1670, o miristato de sacarose comercial M-1695 e o laurato de sacarose comercial L-1695 para a preparação dos proniossomas e estes foram avaliados e comparados em relação à sua eficiência de encapsulação, dimensões e capacidade de libertação do fármaco. Relativamente à promoção da absorção *in vitro* da vinpocetina e do aumento da permeabilidade da pele de rato escolhida para o estudo, estabilidade e propriedades irritantes para a pele, apenas o L-1695 foi avaliado e comparado com o surfactante Tween 20®. Todos os ésteres de sacarose promoveram percentagens de eficiência de encapsulação do fármaco acima dos 85%, sendo que o éster que se destacou foi o S-970 com uma percentagem de 98.99%. O L-1695, por sua vez, foi o éster que permitiu a formação de proniossomas de dimensões mais reduzidas ao passo que, os proniossomas preparados pelo S-1670 exibiram o maior tamanho. No estudo da capacidade de libertação *in vitro* da vinpocetina, os autores observaram que a libertação do fármaco dependia do tamanho da cadeia de carbonos dos surfactantes e que os ésteres de sacarose com a cadeia de carbonos mais curta permitiram maior libertação da vinpocetina do que os estearatos de sacarose, sendo o L-1695 o éster que promoveu a libertação de maior quantidade do fármaco. No que diz respeito à ao estudo da permeação da pele, a quantidade de vinpocetina libertada pelo niossoma preparado pelo L-1695 foi superior à quantidade libertada pelo niossoma preparado pelo Tween 20®, no mesmo período de tempo. No estudo das propriedades irritantes dos niossomas, o L-1695 também revelou ser mais seguro e menos agressivo para a pele do que o Tween 20® e, relativamente à estabilidade dos dois niossomas, ambos apresentaram boa estabilidade após o seu armazenamento durante 90 dias, pois os autores não observaram reduções significativas na eficiência de encapsulação e nas suas dimensões. Por último, no estudo sobre a promoção da absorção da vinpocetina, proniossomas com o L-1695 na sua formulação foram incorporados num penso transdérmico e comparados com Vinporal®, um comprimido destinado a administração oral. A absorção da vinpocetina veiculada pelo penso transdérmico foi bastante mais lenta e mais morosa, comparativamente com a

absorção da vinpocetina veiculada no comprimido. O penso libertou uma grande quantidade de fármaco, sendo o tempo máximo às 12 horas após a administração. Após as 12 horas, a libertação do fármaco diminuiu, e apesar de continuar a haver libertação de vinpocetina, as concentrações plasmáticas diminuem progressivamente até às 72 horas. A concentração plasmática máxima da vinpocetina veiculada pelo penso transdérmico foi menor do que a concentração plasmática máxima atingida pelo Vinporal®, no entanto, a vinpocetina veiculada pelo penso transdérmico exibiu um tempo de semi-vida de 13.94 horas, ao passo que o tempo de semi-vida da vinpocetina veiculada pelo comprimido foi apenas de 1.36 horas. Relativamente à extensão da biodisponibilidade da vinpocetina, os autores afirmaram que a vinpocetina veiculada pelo penso transdérmico apresenta uma biodisponibilidade 101% maior do que o Vinporal®. Após a avaliação dos resultados obtidos, os autores afirmaram que pronisossomas formados por ésteres de sacarose são adequados na promoção da libertação, penetração e absorção da vinpocetina, administrada transdermicamente.

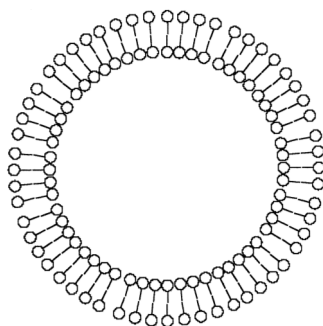


Figura 5- Figura ilustrativa da estrutura de um niossoma. Adaptado de (Uchegbu & Florence, 1995).

5.3. Nanoemulsões e nanossuspensões

As nanoemulsões são emulsões opticamente transparentes, cujo tamanho das partículas da fase externa varia entre 20 e 200 nm, e são sistemas que exibem elevada estabilidade, ao passo que as emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis. (T. Tadros, Izquierdo, Esquena, & Solans, 2004) Tal como as emulsões, existem dois tipos de nanoemulsões: nanoemulsões A/O e nanoemulsões O/A (Thakur, Garg, Sharma, & Kumar, 2012) e, devido à sua estabilidade, são sistemas largamente utilizados no âmbito da tecnologia farmacêutica como veículos na administração oral de diversos fármacos como anti-hipertensores (Shafiq et al., 2007) e antibióticos. (Date & Nagarsenker, 2007) O emprego de nanoemulsões também é descrito na promoção da biodisponibilidade oral do anti-retoviral saquinavir (Vyas, Shahiwala, & Amiji, 2008), na administração parentérica de paclitaxel através de uma nanoemulsão rica em colesterol, (Dias, Carvalho, Rodrigues, Graziani, & Maranhão, 2007) e na administração da vacina contra o antraz através de uma nanoemulsão A/O. (Bielinska et al., 2007)

Tal como as emulsões, as nanoemulsões requerem de surfactantes na sua formulação. O estearato de sacarose comercial S-970 foi descrito como um surfactante adequado na formulação de nanoemulsões para a administração de minoxidil, fluconazol, acetato de fluodrocortisona e ácido flufenâmico através da pele e exibiu melhores capacidades emulgentes, quando comparado com a lecitina, pois permitiu a formação de partículas de menores dimensões, conferiu maior estabilidade eletroquímica e física às nanoemulsões. (Klang, Matsko, & Raupach, 2011) Relativamente à alteração da permeabilidade da pele e promoção da penetração dos fármacos, tanto o S-970 como a lecitina exibiram taxas de permeação cutânea semelhantes para o acetato de fluodrocortisona e para o ácido flufenâmico, contudo a lecitina demonstrou ser mais eficaz como promotora da penetração do fuconazol e do minoxidil na pele de porco.

A aplicação do S-970 como agente promotor da permeação cutânea e também foi avaliada em nanoemulsões destinadas a veiculação na administração tópica da progesterona e a incorporação do éster na formulação dos nanossistemas demonstrou aumentar a permeabilidade da pele à progesterona e produzir nanoemulsões estáveis. (Klang, Matsko, Zimmermann, Vojnikovic, & Valenta, 2011)

Takegami & Kitamura (2008) avaliaram a capacidade do laurato, do miristato, do palmitato e do estearato de sacarose de diminuir o tamanho das partículas em nanoemulsões lipídicas destinadas à terapêutica anti-tumoral. Os autores afirmam que, para que as nanoemulsões tenham o efeito desejado, é necessário que o tamanho das suas partículas seja inferior a 100 nm, de forma a conseguirem passar através dos capilares tumorais. Após a adição dos vários ésteres de sacarose, o palmitato de sacarose foi adicionado numa proporção de 2:10 (p/p) em relação à fase oleosa e aumentou a estabilidade da emulsão, ao suprimir o aumento das partículas ao longo do tempo. Dos vários ésteres de sacarose avaliados, o palmitato de sacarose foi o que conferiu maior estabilidade ao sistema e, apesar de todos os outros terem um efeito estabilizante, os autores consideraram o palmitato de sacarose o surfactante mais apropriado para este tipo de nanoemulsões.

Noutro estudo, as propriedades promotoras da penetração percutânea do laurato de sacarose também foram estudadas e comparadas *in vivo* com as do oleato de sacarose em três formulações diferentes: nanoemulsões, nanocápsulas e emulsões O/A. O fármaco utilizado foi o octilmetoxicinamato e, em concordância com o estudo anteriormente referido, o laurato de sacarose incorporado na nanoemulsão foi o éster que demonstrou promover maior penetração do octilmetoxicinamato e todas as formulações onde este estava incluído revelaram maior capacidade de potenciar a penetração do composto através da pele, em comparação com o oleato. Os autores atribuíram a eficácia do laurato de sacarose à sua cadeia de carbonos, que permitiu a interação do éster com os lípidos intercelulares e defendem que, para a formulação de um sistema promotor da penetração percutânea, é imperativo ter em conta alguns fatores como a natureza do sistema, o tamanho do sistema e o tipo de composto promotor. (Calderilla-Fajardo et al., 2006)

A utilização de nanossuspensões sólido-em-óleo (S/O) estabilizadas por ésteres de sacarose na administração transdérmica de alguns fármacos é referida por alguns autores. Por exemplo, o erucato de sacarose comercial ER-290 foi escolhido como surfactante na formulação de nanossuspensões (S/O) destinadas à administração transdérmica de proteínas como a insulina marcada com isotiocianato de fluoresceína, a peroxidase proveniente de *Armoracia rusticana* e uma proteína verde fluorescente. As proteínas foram revestidas pelo éster, formando complexos de surfactante-proteína. Os autores também prepararam soluções aquosas das proteínas, emulsões A/O, misturas

físicas contendo as proteínas e o ER-290 e compararam a penetração potenciada pelas mesmas com a penetração das proteínas potenciada pela nanossuspensão (S/O). Os autores constataram que a nanossuspensão (S/O) foi a formulação que permitiu a penetração de maior concentração das proteínas através da pele. (Tahara et al., 2008)

Os erucatos de sacarose comerciais ER-190 e ER-290 exibiram ser capazes de promover a permeação cutânea ao diclofenac de sódio, quando utilizados como surfactantes em nanosuspensões (S/O) destinadas ao estudo da sua aplicação na administração transdérmica do fármaco. (Piao, Kamiya, Hirata, Fujii, & Goto, 2008) O estudo foi conduzido *in vitro* e a nanosuspensão estabilizada pelo ER-290 revelou ser mais eficaz a promover a alteração da permeabilidade da pele de porco ao diclofenac de sódio do que o ER-190. Relativamente à estabilidade das nanossuspensões (S/O), os autores observaram a formação de precipitados na nanossuspensão estabilizada pelo ER-290, e uma leve agregação de partículas na nanossuspensão estabilizada pelo ER-190, após 3 semanas de armazenamento.

5.4. Nanopartículas

As nanopartículas são sistemas que podem ser poliméricos ou constituídos por lípidos sólidos e o seu tamanho varia entre os 10 e os 1000 nm. As nanopartículas poliméricas contêm um núcleo constituído por uma matriz de polímeros, (Mohanraj & Chen, 2006) ao passo que o núcleo das nanopartículas sólidas lipídicas é formado por uma matriz de lípidos sólidos. (Ekambaram et al., 2012) Estes nanossistemas têm relevado ser bastante úteis na veiculação e administração de fármacos, pois controlam e sustentam a libertação dos mesmos, permitindo uma maior biodisponibilidade e podem ser utilizados em várias vias de administração. (Mohanraj & Chen, 2006) Por exemplo, existem estudos sobre a utilização de nanopartículas poliméricas na veiculação e administração parentérica de anti- cancerígenos (Brasseur, Brault, & Couvreur, 1991; Yoo, Lee, Oh, & Park, 2000), administração oral de péptidos (Allémann, Leroux, & Gurny, 1998; Damgé, Michel, Aprahamian, Couvreur, & Devissaguet, 1990) e de anti-inflamatórios não-esteróides (Müller, Haas, Bassani, & Guterres, 2004), administração parentérica de antibióticos (Fresta et al., 1995) e administração direcionada para locais de ação específicos de alguns fármacos na terapêutica de tumores. (Brannon-Peppas & Blanchette, 2004)

Em relação às nanopartículas sólidas lipídicas, o seu emprego como veículos de fármacos está descrito na administração oral de anti-tumorais (Yang, Zhu, Lu, Liang, & Yang, 1999), anti-parkinsonicos (Demirel, Yazan, Müller, Kiliç, & Bozan, 2001) da vinpocetina (Luo, Chen, Ren, Zhao, & Qin, 2006) de péptidos e de proteínas (Almeida & Souto, 2007), pois demonstram aumentar a biodisponibilidade dos fármacos e evitar a degradação dos mesmos no Trato Gastrointestinal. (Gasco, 2007) As nanopartículas sólidas lipídicas também são mencionadas na veiculação de anti-cancerígenos na terapêutica do cancro da mama (Lu, Xiong, Yang, Yin, & Chao, 2006) administrados parentericamente, pois são veículos seguros para administração parentérica de fármacos devido ao seu tamanho reduzido. (Marcato, 2009). O seu uso também é referido na administração tópica de podofilotoxina, um fármaco utilizado na terapêutica de verrugas e condilomas provocados pelo Vírus do Papiloma Humano, que exhibe efeitos adversos quando absorvido sistemicamente e as nanopartículas sólidas lipídicas previnem a absorção sistémica do mesmo e aumentam o seu tempo de residência na pele. (Chen et al., 2006) Também a administração tópica de penciclovir através de nanopartículas sólidas lipídicas é descrita e o seu uso promoveu uma penetração mais profunda do

fármaco na derme, quando comparada com a formulação comercial. (Lv et al., 2009) As nanopartículas sólidas lipídicas também são mencionadas na administração tópica de glucocorticóides (Maia, Mehnert, & Schäfer-Korting, 2000) bem como na administração de péptidos e proteínas por vias alternativas como as vias nasal e pulmonar. (Almeida & Souto, 2007)

As nanopartículas poliméricas apresentam algumas desvantagens em relação às nanopartículas sólidas lipídicas como a existência de resíduos de solventes orgânicos utilizados na sua preparação e a degradação polimérica que ocorre aquando o armazenamento. A citotoxicidade que exibem e a sua produção em larga escala também são questões problemáticas aquando a sua utilização. (Müller, Mäder, & Gohla, 2000; Wissing, Kayser, & Müller, 2004) Estes nanossistemas podem ser preparados por difusão-emulsificação, evaporação do solvente, polimerização de monómeros, precipitação de polímeros pré-formados, preparação de nanopartículas através de polímeros hidrofílicos e através da tecnologia de fluidos supercríticos (Schaffazick & Guterres, 2003; Soppimath, Aminabhavi, Kulkarni, & Rudzinski, 2001) e, consoante o método utilizado, as nanopartículas poliméricas podem originar nanocápsulas ou nanoesferas. Por sua vez, as nanopartículas lipídicas são preparadas através de homogeneização quente e fria a altas pressões, método de microemulsões, técnica de evaporação do solvente, técnica de fluidos supercríticos, precipitação, homogeneização a alta velocidade e secagem por aspersão. (Marcato, 2009) Contudo, tanto as nanopartículas poliméricas como as nanopartículas lipídicas necessitam de surfactantes na sua preparação e composição, que lhes confirmem estabilidade e tamanho apropriado. (Ekambaram et al., 2012)

Os ésteres de sacarose, como foi mencionado anteriormente, são surfactantes não iónicos biodegradáveis não-tóxicos e o seu emprego na preparação de nanopartículas sólidas lipídicas é mencionado na literatura. Um éster de sacarose com EHL de 15 foi escolhido como surfactante na preparação de nanopartículas lipídicas sólidas destinadas à administração intravenosa do paclitaxel, um antineoplásico. (Arica, Benoît, & Lamprecht, 2006) Os autores preparam as nanopartículas lipídicas sólidas através de dois métodos diferentes: técnica de injeção do solvente e emulsificação por ultrassons e determinaram as dimensões das nanopartículas, o potencial zeta, a eficiência de encapsulação e a promoção da libertação *in vitro* do fármaco. As dimensões das nanopartículas lipídicas sólidas preparadas pela técnica de injeção do solvente exibiram uma dimensão mais reduzida do que as nanopartículas lipídicas

sólidas preparadas por emulsificação por ultrassons, no entanto, todas as formulações apresentaram potencial zeta negativo, o que indica que o éster de sacarose foi eficaz na estabilização das formulações. A eficiência de encapsulação das preparadas por emulsificação por ultrassons foi de 89.1% ao passo que, a eficiência de encapsulação das nanopartículas lipídicas sólidas preparadas pela técnica de injeção do solvente exibiram uma eficiência de encapsulação de 92.2%. Após os resultados, os autores concluíram que os ésteres de sacarose são estabilizantes adequados de nanopartículas sólidas.

A aplicação do estearato de sacarose comercial S-1670 como surfactante também está descrita na produção de suspensões semi-sólidas de nanopartículas lipídicas sólidas destinadas a administração tópica de fármacos, num estudo levado a cabo por Lippacher, Müller, & Mäder (2002). Os autores observaram que as partículas das suspensões semi-sólidas produzidas que continham 3%, 4% e 5% (p/p) de surfactante não aumentaram de tamanho durante 90 dias de armazenamento e que exibiram resistência a deformações, quando exposta a forças deformadoras. O estearato de sacarose comercial S-1670 também foi utilizado na preparação de nanopartículas sólidas lipídicas para um estudo sobre os efeitos *in vivo* das mesmas na hidratação e viscoelasticidade da pele. (Wissing & Müller, 2003)

Huang & Moriyoshi (2008) também utilizaram o estearato de sacarose comercial S-1570 como surfactante na produção de nanopartículas de lidocaína, um fármaco insolúvel em água, através da técnica expansão rápida de soluções supercríticas. Durante o procedimento, os autores preparam uma suspensão aquosa de lidocaína e a adição do S-1570 permitiu estabilizar o tamanho das partículas do fármaco e a dispersão do mesmo, evitando assim a sua agregação e a consequente formação de cristais.

Na preparação de suspensões aquosas de nanopartículas sólidas lipídicas, o éster de sacarose S-1670 foi utilizado como surfactante, num estudo *in vitro* sobre a sua estabilidade eletrolítica e do pH no Trato Gastrointestinal. O éster impediu a agregação das nanopartículas lipídicas sólidas constituídas pelo palmitato de cetilo e estabilizou as, pois os autores não observaram alterações significativas das suas dimensões quando em contato com meios de diferentes pH. Contudo, não foi capaz de estabilizar as restantes nanopartículas lipídicas sólidas constituídas por mono-estearato de glicerol e tri-behenato de glicerol e os autores concluíram que a estabilização das suspensões

depende da compatibilidade do surfactante com o lípido constituinte das nanopartículas sólidas lipídicas. (Zimmermann & Müller, 2001)

Relativamente às nanopartículas poliméricas, não existe muita literatura referente ao emprego de ésteres de sacarose na sua produção. Porém, num estudo mencionado anteriormente realizado por Calderilla-Fajardo et al. (2006), nanocápsulas foram preparadas com oleato e laurato de sacarose através da técnica emulsificação-difusão e ambos estabilizaram o sistema. Contudo, as nanocápsulas preparadas não demonstraram ser eficazes na promoção da penetração percutânea do octilmetoxicinamato, pois a rigidez da sua matriz polimérica não permitiu a interação desta com os lípidos constituintes da pele.

5.5. Modificação da solubilidade de fármacos

A solubilidade de fármacos pouco solúveis em água é uma problemática frequente na administração oral dos mesmos e no desenvolvimento de novas formulações. (Vemula, Lagishetty, & Lingala, 2010) Os fármacos, quando administrados oralmente, apenas são absorvidos quando exibem boa solubilidade no meio do Trato Gastrointestinal. (Kumar et al., 2011) A literatura refere alguns métodos utilizados com intuito de aumentar a solubilidade em água e promoverem a dissolução de fármacos como a redução do tamanho de partículas, a preparação de suspensões sólidas, a preparação de micro e nanoemulsões, as técnicas de fluidos supercríticos, a solubilização micelar e as técnicas de formação de complexos. (Savjani, Gajjar, & Savjani, 2012)

Uma das propriedades dos ésteres de sacarose é a capacidade de solubilizarem fármacos pouco solúveis em água (Kürti et al., 2012; Szűts & Szabó-Révész, 2012) e, devido a esta característica, são utilizados em estratégias de melhoria da solubilidade destes fármacos. Por exemplo, a capacidade do mono-laurato de sacarose de solubilizar a ciclosporina em etanol e em água foi estudada para a formulação de uma solução sólida destinada a administração oral. (Hahn & Sucker, 1989) O mono-laurato de sacarose permitiu a solubilização da ciclosporina em etanol e, após a evaporação do mesmo, ocorreu a formação de uma solução sólida, que, em contato com água, se dissolveu completamente. Os autores também apreciaram as capacidades do mono-caprato e do mono-oleato de solubilizarem a ciclosporina à temperatura ambiente, sendo que o mono-oleato de sacarose conseguiu solubilizar 25 mg/ml de ciclosporina durante três horas, ao passo que o mono-caprato solubilizou uma concentração máxima de 12mg/mL, e concluíram que as capacidades solubilizantes dos ésteres são diretamente proporcionais à sua concentração.

A coprecipitação de ésteres de sacarose para a promoção da dissolução da nifedipina quando administrada oralmente também é referida na literatura. (Ntawukulilyayo, Bouckaert, & Remon, 1993) Os autores avaliaram os coprecipitados formados pelos ésteres descritos na tabela 4 relativamente às suas capacidades promoção da dissolução da nifedipina, exceto os formados pelos ésteres L1695 e P1670. De todos os coprecipitados preparados em isopropanol, o coprecipitado nifedipina/P1570 foi o que revelou maior capacidade de dissolução da nifedipina, seguido dos coprecipitados nifedipina/S1570 e nifedipina/F160, ao passo que os

coprecipitados formados pelos ésteres de sacarose com valores de EHL de 13 e 11 revelaram capacidade mais fraca de promover a dissolução da nifedipina. Após estes resultados, os autores compararam a capacidade de promoção da dissolução da nifedipina dos coprecipitados nifedipina/P1570, nifedipina/S1570 e nifedipina/F160 preparados em isopropanol e em clorofórmio na proporção nifedipina/éster de 1:14 (p/p) e observaram que o co-precipitado nifedipina/P1570 formado em isopropanol foi a formulação mais eficaz na promoção da dissolução da nifedipina. Porém, no teste de estabilidade física, três coprecipitados de nifedipina/P1570 na proporção de nifedipina/éster de 1:14 (p/p) foram armazenados durante 6 meses em ambientes com valores de humidade relativa de 25, 65 e 85%, respetivamente, e, quando comparados com um co precipitado preparado de fresco, exibiram uma diminuição da dissolução da nifedipina.

Tabela 4- Tabela representativa dos ésteres de sacarose utilizados na preparação de coprecipitados de nifedipina. Adaptado de (Ntawukulilyayo et al., 1993).

Éster de sacarose	EHL	Proporção de nifedipina/éster	Solventes
Estearato de sacarose S1570	15	1:3; 1:6; 1:9; 1:14	Clorofórmio
Estearato de sacarose S1170	11	1:3; 1:6; 1:9; 1:14	Isopropanol
Palmitato de sacarose F140	15	1:3; 1:6; 1:9; 1:14	
Palmitato de sacarose F160	13	1:3; 1:6; 1:9; 1:14	
Palmitato de sacarose F110	11	1:3; 1:6; 1:9; 1:14	
Palmitato de sacarose P1570	15	1:3; 1:6; 1:9; 1:14	
Palmitato de sacarose P1670	16	1:14	
Laurato de sacarose L1695	16	1:14	

A moagem conjunta do estearato de sacarose comercial S-1670 e da fenitoína, no sentido de promover a dissolução da mesma também está descrita na literatura. (Otsuka & Matsuda, 1995) Os autores compararam as propriedades solubilizantes do S-1670, do surfactante sulfato lauril de sódio e do deoxicholato de sódio através do teste de solubilidade em segundos fluidos descrito na Farmacopeia Japonesa. Os surfactantes foram incorporados na formulação de pós moídos e de misturas físicas e os autores constataram que todos os pós moídos constituídos pelos surfactantes promoveram a dissolução da fenitoína em concentrações constantes durante 6 horas ao passo que, os pós sem surfactantes nas suas formulações, permitiram atingir concentrações constantes do fármaco apenas 3 horas após a sua administração. Contudo, de todos os surfactantes

analisados, o S-1670, em ambas as formulações, foi o que exibiu menor solubilidade aparente da fenitoína, sendo que esta se encontrava no estado cristalino.

Os mesmos autores também apreciaram a capacidade do S-1670 e do deoxicholato de sódio de promoverem a dissolução do glibuzole, um anti-diabético oral comercialmente indisponível em Portugal, e, além da formulação de pós moídos e de misturas físicas, também fundiram conjuntamente os surfactantes como glibuzole, sendo que o produto da co-fusão do S-1670 e do glibuzole apresentou uma estrutura amorfa, vítrea e sólida. (Otsuka, Ofusa, & Matsuda, 1998) Todas as formulações foram testadas pelo método anteriormente referido e os autores constataram que, no primeiro fluido, a pH de 1.1, o produto resultante da co-fusão do S-1670 e do glibuzole permitiu a libertação apenas de 0.35 mg/mL em 100 minutos ao passo que a sua mistura física permitiu a libertação de aproximadamente 0.4 mg/mL durante 400 minutos. Porém, no segundo fluido e a pH de 6.8, o mesmo produto dissolveu uma concentração de fármaco de 4 mg/mL após 600 minutos, ao passo que a mistura física correspondente dissolveu 3mg/mL no mesmo período de tempo.

Horoz, Kiliçarslan, Yüksel, & Baykara (2006) recorreram ao uso do estearato de sacarose comercial Crodesta F 160® como agente dispersante na formulação das Microesferas RS Eudragit® com o intuito de aumentar a solubilidade e a dissolução do cloridrato de verapamilo. Os autores conduziram um estudo *in vitro* para avaliar as capacidades do estearato de sacarose de potenciar a dissolução e a libertação do verapamilo das microesferas, a eficiência de encapsulação, o tamanho das microesferas e compará-las com as capacidades do estearato de alumínio. De acordo com os resultados, os autores concluíram que, apesar do estearato de sacarose apresentar uma menor eficiência de encapsulação e produzir microesferas de maior tamanho que o estearato de alumínio, é capaz de promover maior dissolução e uma libertação mais rápida do cloridrato de verapamilo em meios com pH de 1.2, 4.5 e 6.8, e em microesferas com 11.1, 14.4 e 20% (p/v) de polímero na sua composição, sendo que a formulação que revelou ser mais promissora no âmbito do estudo foi a microesfera composta por 3% (p/v) de estearato de sacarose.

Szűts et al.(2008) prepararam misturas fundidas de ésteres de sacarose e fármacos na proporção de 1:1 (p/p), sendo que os fármacos escolhidos foram o meloxicam e diclofenac de sódio e os ésteres de sacarose escolhidos foram o palmitato de sacarose comercial P1670, o estearato de sacarose comercial S970 e o behenato de sacarose comercial B370, com valores de EHL de 16, 9 e 3, respetivamente. Para serem

avaliados em relação à sua capacidade de promoção da dissolução dos fármacos, 50 mg de cada éster foram incorporados em cápsulas de gelatina dura conjuntamente com 50 mg de meloxicam e, 15 mg de cada éster e 15mg de diclofenac de sódio foram incorporados também em cápsulas de gelatina dura. O P1670 foi o éster que exibiu maior capacidade de dissolver ambos os fármacos e os autores constataram que a dissolução do meloxicam foi afetada pelo valor de EHL dos ésteres, no sentido em que, os ésteres de sacarose hidrofílicos promovem o aumento da dissolução do fármaco, ao passo que ésteres de sacarose lipofílicos atrasam a dissolução do mesmo. Contudo, o P-1670 não promoveu a dissolução de 100% do fármaco devido à formação de geles, que retardou a dissolução do mesmo. A dissolução do diclofenac de sódio, por sua vez, não demonstrou ser afetada pelo carácter hidrofílico, nem pelas propriedades gelificantes do P1670. Assim, os autores concluíram que a dissolução dos fármacos promovida pelos ésteres de sacarose é influenciada pelos seus valores de EHLe pela sua capacidade de formação de geles.

Os mesmos autores levaram a cabo um estudo para investigar o comportamento térmico e estrutural do palmitato de sacarose comercial P1670 e do estearato de sacarose comercial S970 bem como as suas capacidades promotoras da dissolução do diclofenac de sódio. (Szűts, Sorrenti, & Catenacci, 2009) Para tal, prepararam misturas físicas e suspensões sólidas de P1670, de S970 e de diclofenac de sódio, na proporção de 1:1 (p/p), através de tecnologia de fusão e amostras dissolvidas e recristalinizadas, preparadas pelo método do solvente. Após a comparação das várias formulações, os autores evidenciaram que a amostra dissolvida e recristalinizada constituída pelo P1670 permitiu uma dissolução de maior quantidade do fármaco no meio, ao passo que a mistura física e a suspensão sólida revelaram dissolver quantidades menores do fármaco. A justificação dos autores para estes resultados foi o facto de o diclofenac de sódio se encontrar disperso na amostra dissolvida e recristalinizada, o que permitiu a sua dissolução. Em relação ao éster S970, a amostra dissolvida e recristalinizada também exibiu melhores capacidades de promover a dissolução do diclofenac de sódio, ao passo que a mistura física e a suspensão sólida dissolveram apenas pequenas quantidades do fármaco, contudo, os autores defendem que o éster P1670 possibilitou maior dissolução do fármaco, comparando com o éster S970, por ser mais hidrofílico.

O laurato de sacarose comercial D1216 foi incorporado cinco suspensões sólidas, conjuntamente com o PEG 6000 preparadas através de tecnologia de fusão, em percentagens de 0, 1, 5, 10 e 15% (p/p), no sentido de promover a dissolução do

gemfibrozil, um fármaco pouco solúvel em água. (Szűts, Lang, Ambrus, & Kiss, 2011) Neste estudo, a citotoxicidade do éster também foi avaliada em células CaCo-2 do carcinoma do cólon humano e, através dos resultados obtidos, os autores observaram que todas as suspensões de D1216 e a suspensão de PEG 6000 aumentaram a dissolução do gemfibrozil, quando comparadas com a suspensão contendo apenas o fármaco. A suspensão com a concentração de 10% (p/p) do éster D1216 na sua formulação promoveu a maior dissolução do fármaco, seguida da suspensão com a concentração de 15% (p/p) de D1216. Os autores constataram também que todas as suspensões contendo D1216 na sua formulação promoveram uma maior dissolução do fármaco durante as 120 horas do ensaio, comparativamente com a suspensão contendo apenas PEG 6000. De forma a estudarem a possível toxicidade do D1216, os autores estudaram a possível ocorrência de morte celular através dos ensaios da libertação de LHD e a possível diminuição da viabilidade celular através do ensaio da conversão de MTT em cristais de formazano aquando a administração de suspensões com concentrações de 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 e 1200 µg/mL de D1216 e constataram que, após uma hora, o éster provocou a morte celular quando presente em concentrações superiores a 200µg/mL. Os autores também observaram uma diminuição da conversão de MTT e, por conseguinte, evidências de toxicidade, quando o D1216 se encontrava presente em concentrações superiores 100µg/mL e concluíram que, apesar de o laurato de sacarose D1216 ter exibido bom perfil como promotor da solubilidade e dissolução do gembrofril, o mesmo não se verifica como promotor da absorção do fármaco, visto que a partir de uma determinada concentração, exibiu citotoxicidade.

Os estearatos de sacarose S1670, S1570 e S-1170, com valores de EHL de 16, 15 e 11, respetivamente foram estudados relativamente aos efeitos sobre as propriedades de comprimidos de desintegração rápida. (Koseki, Onishi, Takahashi, Uchida, & Machida, 2009) Cinco comprimidos foram preparados com 0.1, 0.2, 1, 2 e 4 mg de S1670, três comprimidos foram preparados com 0.1, 0.2 e 1 mg de S1570 e três comprimidos foram preparados com 0.1, 0.2 e 1 mg de S1170 e foram comparados com a formulação comercial Lasix® em relação à sua dureza e velocidade de desintegração. Os resultados demonstraram que todos os comprimidos constituídos por S1670 apresentaram valores de dureza acima dos 30 N e um tempo de desintegração inferior a 20 segundos, sendo que o comprimido com 0.2 mg de S-1670 foi o que se desintegrou mais rapidamente. Os três comprimidos constituídos por S-1570 e os três comprimidos constituídos por S1170 também exibiram valores de dureza acima dos 30 N e

desintegraram-se num período de tempo inferior a 20 segundos, sendo que o comprimido constituído por 1 mg de S1570 e o comprimido constituído por 0.1 mg de S1170 revelaram menor tempo de desintegração. Os mesmos três comprimidos foram avaliados e comparados com a formulação comercial Lasix® num estudo de dissolução. O comprimido constituído por 0.2 mg de S1670 foi o que promoveu a libertação mais rápida e de maior quantidade de furosemida, seguido da formulação comercial Lasix®. Os comprimidos constituídos por 1 mg de S1570 e por 0.1 mg de S1170, por sua vez, exibiram uma capacidade de dissolução inferior, sendo que o comprimido constituído por 0.1 mg de S1170 foi o que promoveu a libertação mais lenta e de menor quantidade de furosemida. Os autores também estudaram e compararam as capacidades do comprimido constituído por 0.2 mg de S1670 de promover a absorção oral em ratos com o Lasix®. O comprimido constituído por 0.2 mg de S1670 revelou uma concentração plasmática máxima atingida superior à concentração plasmática máxima atingida pelo Lasix®, bem como o valor de $AUC_{0-\infty}$ foi superior. Perante os resultados obtidos dos vários testes realizados, os autores concluíram que o comprimido constituído por 0.2 mg de S1670 é uma formulação que potencia a absorção da furosemida, pois exibiu potenciar uma dissolução mais rápida do fármaco e concentrações plasmáticas superiores aquando a absorção, em comparação com o Lasix®.

A capacidade de promoção da dissolução da indometacina pelo éster de sacarose 1815, em suspensões sólidas preparadas por tecnologia de fusão e pelo método de solvente e em misturas físicas foi investigada por Sunil, Srikanth, Rao, Raju, & Murthy (2012). Os autores prepararam dispersões sólidas com proporções na sua composição de 1:0.25, 1:0.5, 1:0.75 e 1:1 (p/p) de éster 1815 e de indometacina, respetivamente, através dos dois métodos mencionados e preparam uma mistura física de éster 1815 e de indometacina na proporção de 1/0.5 (p/p). Duas suspensões sólidas foram preparadas através do método do solvente, uma com polivinilpirrolidona (PVP) e indometacina em proporções de 1:0.5 (p/p), respetivamente, e outra com PEG 4000 e indometacina também em proporções de 1:0.5 (p/p). A suspensão sólida constituída pelo éster e pela indometacina na proporção 1:0.5 preparada pelo método do solvente, foi a formulação que promoveu maior dissolução do fármaco, em comparação as restantes suspensões sólidas do éster 1815 preparadas por ambos os métodos, inclusivé as suspensões sólidas constituídas por PVP e por PEG4000. Os autores também observaram que, além da suspensão sólida preparada pelo método do solvente, contendo na sua composição o

éster 1815 e a indometacina na proporção de 1:0.5 (p/p), também a mistura física composta pelo éster 1815 e pela indometacina na proporção de 1:0.5 (p/p), respetivamente, promoveu a dissolução de quantidades maiores de indometacina do que as suspensões sólidas constituídas por PVP e por PEG4000.

5.6. Liberação prolongada e liberação controlada de fármacos

A via oral é, por excelência, a via mais utilizada, confortável e conveniente de administração de fármacos e, como tal, verificou-se um grande desenvolvimento de sistemas de liberação prolongada e de liberação controlada de fármacos destinados à administração oral. (Isha, Nimrata, Rana, & Surbhi, 2012) Estes sistemas permitem a uniformidade na liberação e nas doses libertadas do fármaco por um longo período de tempo e aumentam a sua biodisponibilidade, evitam possíveis flutuações das concentrações plasmáticas do fármaco, reduzem o risco de reações adversas medicamentosas, diminuem a frequência das tomas diárias e melhoram a adesão à terapêutica. (Ratilal, Priti, Bankar, & Pawar, 2011) Porém, é imperativo referir os sistemas de liberação prolongada e os sistemas de liberação controlada de fármacos exibem diferenças entre si. Segundo Barghava, Rathore, Tanwar, Gupta, & Bhaduka (2013), os sistemas de liberação prolongada são “sistemas desenvolvidos para promoverem um efeito terapêutico prolongado através da liberação continuada de fármaco durante um período extenso de tempo, após a administração de uma dose única do mesmo” ao passo que, os autores definem os sistemas de liberação controlada de fármacos como sendo “classes de produtos farmacêuticos ou outros produtos biologicamente ativos, dos quais o fármaco é libertado do sistema de forma planeada, previsível e mais lenta, por um longo período de tempo”.

Existem vários sistemas de liberação de fármacos como os sistemas controlados por difusão, os sistemas controlados por dissolução, os sistemas poliméricos biodegradáveis, sistemas controlados pela pressão osmótica, sistemas controlados por ligandos, os sistemas de liberação programada de fármacos, os sistemas dependentes do pH e os sistemas dependentes da temperatura (Ratilal et al., 2011) e vários autores recorreram aos ésteres de sacarose na produção de alguns destes sistemas.

Por exemplo, Ntawukulilyayo, Demuynck, & Remon (1995) utilizaram os estearatos de sacarose comerciais S170, S770 e S1570 e o palmitato de sacarose comercial P1570 conjuntamente com a celulose microcristalina, na produção de matrizes de comprimidos, com intuito de modificar a liberação do monohidrato de teofilina e do ibuprofeno. Comprimidos constituídos por 5, 10 e 15% (p/p) de cada um dos ésteres e pela celulose microcristalina foram avaliados em relação à capacidade de promoverem *in vitro* a dissolução e consequente liberação da teofilina. Os autores constataram que o comprimido constituído por 5% do P1570 foi a formulação que

promoveu a dissolução mais rápida do fármaco e que, o aumento da concentração de P1750 no comprimido provoca uma diminuição da dissolução da teofilina, pois o comprimido constituído por 15% de P1570 foi o que promoveu a libertação mais lenta do fármaco. Os autores também investigaram a capacidade dos ésteres de promoção da dissolução e consequente libertação da teofilina, quando aquecidos a temperaturas acima dos seus pontos de fusão e, perante os resultados, registaram uma diminuição acentuada na capacidade dos ésteres de promoverem a dissolução da teofilina, sendo que o P1570 libertou 80% do fármaco apenas 8 horas após a sua administração. Os comprimidos constituídos por S1570 revelaram um comportamento semelhante. Relativamente ao ibuprofeno, este foi incorporado em comprimidos constituídos por 2.5, 5 e 10% de P1570, previamente tratado durante 1 hora a 55°C e os autores verificaram que o P1570 é um agente adequado na formação de matrizes de comprimidos para administração de outros fármacos, além da teofilina, pois também provocou a libertação e dissolução lentas do diclofenac de sódio. Porém, os autores, ao substituírem a metilcelulose cristalina na formação da matriz dos comprimidos de P1570 por monohidrato de lactose, metilcelulose e dihidrato de fosfato dicálcico, constataram que o éster não foi capaz de promover a dissolução e libertação prolongada dos fármacos.

Na preparação de matrizes de comprimidos preparados por compressão direta, os estearatos de sacarose S070, S170, S370, S570, S970, S1190, S1570 e S1670 com valores de EHL de 0, 1, 3, 5, 9, 11, 15 e 16, respetivamente, foram utilizados como agentes promotores da libertação controlada do tartarato de metoprolol, administrado oralmente e os autores focaram o estudo nos possíveis efeitos do carácter hidrofílico-lipofílico dos ésteres na preparação dos comprimidos e na libertação *in vitro* do fármaco. (Chansanroj & Betz, 2010) A compressibilidade do material foi melhorada pelos ésteres de sacarose com valores de EHL entre 3 e 16, devido ao reduzido tamanho das partículas e todos os ésteres de sacarose aumentaram as propriedades lubrificantes da mistura de pós, o que reduziu a força de ejeção na compressão. Em relação à libertação *in vitro* do tartarato de metoprolol, todos os comprimidos contendo ésteres de sacarose na sua composição promoveram uma libertação mais lenta do fármaco do que os restantes comprimidos, sendo que os ésteres de sacarose hidrofílicos, com valores de EHL entre 9 e 16, promoveram uma libertação mais lenta e de maior quantidade do fármaco, comparativamente com os ésteres de sacarose lipofílicos.

Num estudo referido anteriormente e realizado por Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Otomo, et al. (2010), além da investigação das propriedades de formação de geles do palmitato de sacarose comercial P1670 e do estearato de sacarose S970, os autores também avaliaram as capacidades dos mesmos de promoverem *in vitro* a libertação prolongada do paracetamol e, para tal, misturas físicas de paracetamol e dos ésteres de sacarose, na proporção de 1:1 (p/p), foram preparadas, colocadas em cápsulas de gelatina dura e comparadas com cápsulas de gelatina dura contendo só paracetamol. Os resultados demonstraram que ambos os ésteres prolongaram a libertação do paracetamol, sendo que o S970 apenas permitiu a libertação e dissolução do 20% da quantidade de fármaco após 180 minutos, ao passo que o P1670 permitiu a dissolução e libertação de 79%. Os autores concluíram que a capacidade do S970 de formar um gel mais forte do que o P1670 e o seu carácter mais lipofílico permitiram que promovesse uma libertação mais prolongada do paracetamol, tornando-o mais adequado como agente promotor da libertação prolongada de fármacos.

Noutro estudo também mencionado anteriormente e realizado pelos mesmos autores, além das suas capacidades de formar geles dos estearatos de sacarose comerciais S970, S1170, S1570 e S1670, com valores de EHL de 9, 11, 15 e 16, respetivamente, a capacidade de prolongarem a libertação do paracetamol também foi investigada através de testes *in vitro* de dissolução. (Szűts, Budai-Szűcs, Erős, Ambrus, et al., 2010) Os vários estearatos de sacarose e o paracetamol foram misturados fisicamente e inseridos em cápsulas de gelatina dura, na proporção de 1:1 (p/p) e a sua capacidade de dissolução e libertação foi comparada com cápsulas de gelatina sem ésteres de sacarose. Tal como no estudo anterior, o S970, cujo valor de EHL é 9, foi o éster que proporcionou a libertação mais prolongada do fármaco, ou seja, apenas cerca de 16% do fármaco foi libertado e dissolvido após 2 horas. Por sua vez, o S1670, cujo valor de EHL é 16, foi o estearato que proporcionou a libertação e a dissolução mais rápidas, sendo que ao final de 2 horas, aproximadamente 80% da quantidade de paracetamol tinha sido libertada e dissolvida no meio. Os autores concluíram que estearatos de sacarose com valores menores de EHL possuem a capacidade de formar geles mais fortes e são adequados para a formulação de sistemas de libertação prolongada dos fármacos.

5.7. Promoção da penetração e absorção cutânea de fármacos

Como foi mencionado anteriormente, os ésteres de sacarose são compostos que promovem a penetração cutânea de fármacos e, além do seu envolvimento na preparação de niossomas (El-Laithy et al., 2011), microemulsões e nanosistemas (Calderilla-Fajardo et al., 2006) para administração tópica e transdérmica de fármacos, também está referida na literatura a sua utilização noutras formulações como promotores do aumento da permeabilidade cutânea e da penetração e absorção de fármacos.

Lerk & Sucker (1993) estudaram a capacidade do laurato de sacarose comercial L-1695 de alterar a permeabilidade da pele e promover a penetração cutânea da ciclosporina A. Neste estudo, a ciclosporina A foi incorporada num hidrogel composto por 30% (p/v) de laurato de sacarose e foi comparada com um oleogel, constituído por 5% (p/v) ciclosporina A, 20% (p/v) de álcool oleil, 68% (p/v) de Migliol® e 7% (p/v) de Aerosil®, e com uma solução alcoólica composta por 5% (p/v) de ciclosporina A dissolvida em 100mL de álcool isopropilo e pele de ratos proveniente das zonas dorsal e abdominal foi utilizada. A possível ocorrência de efeitos irritantes provocados pelo L-1695 e o seu potencial efeito anti-inflamatório também foram avaliados e, para tal, uma solução micelar e um hidrogel com 2% de L-1695 e 0.1% de ciclosporina foram preparados e comparados com um hidrogel constituído por 2% de Carbopol 934®, 2% de L-1695 e 0.1% de ciclosporina A, uma solução hidroalcoólica de ciclosporina A a 0.1%, uma suspensão de parafina de ciclosporina A a 0.1% e uma solução placebo de L-1695 a 2%. Na investigação dos possíveis efeitos irritantes do L-1695, os autores basearam-se na técnica de medida da espessura de pregas cutâneas provenientes de porquinhos-da-Índia saudáveis, após 12, 24, 36 e 48 horas da administração tópica de uma solução placebo de 2% de L-1695 e os resultados demonstraram que o éster não possui nenhum efeito irritativo para a pele. Em relação à alteração da permeabilidade cutânea, o hidrogel de L-1695 a 30% (p/v) foi a formulação que exibiu maior taxa de penetração da ciclosporina A através da pele e que promoveu a penetração cutânea de maior concentração do fármaco, quando comparado com o oleogel e com a solução alcoólica e, perante estes resultados, os autores constataram que o L-1695 é um surfactante adequado na preparação de formulações destinadas à administração tópica e transdérmica de fármacos.

A capacidade de hidrogéis de laurato de sacarose comercial L-1695 de aumentarem a permeabilidade da pele e promoverem a penetração do estradiol em pele de coelho após a sua administração tópica também foi avaliada. (Vermeire et al., 1996) Neste estudo *in vivo*, os autores avaliaram a possível irritação cutânea a biodisponibilidade do fármaco após uma e sete administrações tópicas de três géles constituídos por 30% (p/v) de etanol e 0.06% (p/p) de estradiol, por 5% (p/p) de L-1695 e 0.06% de estradiol e por 15% (p/p) de L-1695 e 0.06% (p/p) de estradiol, respetivamente. O hidrogel constituído por 15% de L-1695 foi o que permitiu maiores concentrações plasmáticas de estradiol após 1 e 7 dias, ao passo que o hidrogel constituído por 5% de L-1695 foi a formulação que exibiu veicular menores concentrações do fármaco no plasma. Contudo, apesar do hidrogel constituído por 15% de L-1695 ter exibido as maiores concentrações plasmáticas após 1 e 7 dias, os autores observaram uma diminuição da concentração plasmática máxima do estradiol atingida ao sétimo dia quando comparada com a concentração plasmática máxima atingida no primeiro dia e justificam esta diminuição com a possível formação de incrustações. Para a avaliação da possível irritação cutânea dos três géles, os autores realizaram biópsias à pele dos coelhos e compararam os resultados da pele não tratada com os resultados da pele tratada, 7 dias após o seu tratamento com os três géles. Apenas o hidrogel constituído por 15% de L-1695 provocou um aumento significativo da espessura da pele, no entanto, os autores observaram infiltrações provocadas pelas três formulações, concluindo que o L-1695, apesar de exibir boas capacidades de promoção da penetração cutânea e absorção de fármacos, pode provocar potencial irritação na pele.

Um estudo levado a cabo por Ayala-Bravo et al. (2003) sobre os efeitos do laurato e do oleato de sacarose no *stratum corneum* revelou que tanto o laurato como o oleato de sacarose, na presença de Transcutol® e água como solventes, fluidificaram os lípidos do *stratum corneum* e promoveram a penetração transdérmica do fármaco 4-hidroxibenzonitrilo (4-HB). Todavia, o laurato de sacarose, conjuntamente com o solvente Transcutol®, demonstrou ser mais eficiente na penetração cutânea, comparativamente com o oleato de sacarose. Os autores também constataram que o Transcutol®, quando comparado com a água, representou um solvente mais adequado à penetração subcutânea, visto que atuou sinergicamente com os ésteres de sacarose e, por conseguinte, aumentou a capacidade dos mesmos de potenciarem a penetração e absorção do 4-HB.

Os seis lauratos de sacarose descritos na tabela 5 foram escolhidos por Okamoto, Sakai, & Danjo (2005) para serem estudados relativamente às suas potenciais capacidades de promoverem a permeação percutânea *in vitro* da lidocaína, um fármaco ácido e do cetoprofeno, um fármaco básico. Com o intuito de se verificar se os lauratos de sacarose escolhidos promoviam a permeação percutânea dos fármacos ionizados e desionizados, ambos os fármacos foram dissolvidos em soluções-tampão com diferentes pHs, sendo que a lidocaína foi dissolvida numa solução-tampão com pH de 6 e noutra solução-tampão com pH de 10 e o cetoprofeno também foi dissolvido numa solução-tampão com pH de 6 e noutra solução-tampão com pH de 2. A lidocaína também dissolvida em etanol e polietilenoglicol (PEG) 400, estando presente nas soluções numa concentração de 5% (p/v). O cetoprofeno, por sua vez, foi dissolvido em PG e água, estando presente em ambas as soluções numa concentração de 5% (p/v). Os lauratos de sacarose foram dissolvidos numa mistura de acetona e etanol existentes na proporção de 3:2 (v/v), respetivamente, e as soluções resultantes, que continham uma concentração de éster de 25% (p/v), foram aplicadas na pele de rato antes da administração tópica das soluções de ambos os fármacos. Relativamente à lidocaína, a sua permeação não foi significativamente aumentada pelos ésteres de sacarose quando presente na solução-tampão de pH de 10, porém, o éster J-1216 potenciou a permeação da solução de lidocaína de pH 6 e o éster J-1205 aumentou a permeação da solução da lidocaína em PG. Perante estes resultados, os autores dissolveram 1.5% (p/v) de J-1216 e de J-1205, em PEG 400, soluções-tampão a pH de 7 e a pH de 10, em PG e em etanol e aplicaram as soluções na pele sem tratamento prévio. Em concordância com os resultados anteriores, o éster J-1216 potenciou a permeação da solução da lidocaína a pH 7, ao passo que o éster J-1205 promoveu maior permeação da solução da lidocaína em PG. Ambos os ésteres, conjuntamente com o cetoprofeno, foram dissolvidos em duas soluções-tampão, com pHs de 2 e 6 e numa solução cujo solvente era o PG e os autores observaram a capacidade dos dois ésteres de potenciarem a permeação do fármaco. O éster J-1216 promoveu de ambas as soluções-tampão, ao passo que o éster J-1205 foi mais eficaz na promoção da permeação da solução do cetoprofeno em PG.

Tabela 5- Tabela representativa dos ésteres de sacarose utilizados por Okamoto et al.,(2005).

Éster de sacarose	HLB	Composição de ácidos gordos (%)	Composição de mono-ésteres (%)	Composição de di-, tri e poli-ésteres
J-1205	5	C12=100	32	68
J-1216	16	C12=100	81	19
J-1616	16	C16/C18=80/20	79	21
J-1805	5	C16/C18=30/70	30	70
J-1807	7	C16/C18=30/70	41	59
J-1816	16	C16/C18=30/70	75	25

O oleato de sacarose comercial O-1570 e o laurato de sacarose comercial L-1695, conjuntamente com Transcutol®, foram avaliados relativamente ao potencial efeito que exercem na permeação do hidrocloreto de lidocaína e se este é influenciado pelo pH do veículo do fármaco. (Cázares-Delgadillo, Naik, Kalia, Quintanar-Guerrero, & Ganem-Quintanar, 2005) Os autores escolheram pele proveniente de orelhas de porco para os testes de permeação cutânea e soluções 2% de L-1695 e de Transcutol® e de 2% O-1570 e de Transcutol® foram empregadas no pré-tratamento da pele, antes de as soluções de hidrocloreto de lidocaína serem administradas. Os resultados demonstraram que o L-1695 promove maior permeabilidade ao hidrocloreto de lidocaína, quando dissolvido nas soluções de pH 5 e pH 7, ou seja, quando se encontra na forma ionizada, ao passo que, o O-1570 é melhor promotor da penetração cutânea do hidrocloreto de lidocaína, a pH 9, ou seja, quando se encontra na forma desionizada. Assim, os autores constataram que as capacidades de promoção da penetração e de alteração da permeabilidade cutânea dos ésteres de sacarose são afetadas pela sua estrutura, propriedades físico-químicas do fármaco, bem como a presença ou ausência da utilização combinada de promotores da permeação e penetração cutâneas.

Os estearatos de sacarose comerciais S-1670, S-970 e S-370, o palmitato de sacarose comercial P-1670, o miristato de sacarose comercial M-1695 e o laurato de sacarose comercial L-1695 foram utilizados na preparação de matrizes de pensos de maleato de timolol com o intuito de serem avaliados em relação às suas capacidades de dissolução do fármaco, promoção da permeação através da pele de rato, potencial irritação cutânea e promoção da absorção *in vivo* do fármaco. (El-Laithy, 2009) Os estearatos S-370 e S-970, por possuírem valores de EHL de 3 e 9, respetivamente,

exibiram capacidades mais fracas de promover a dissolução do maleato de sacarose, comparativamente com o S-1670, o M-1695 e L-1695 que, por sua vez exibem valores de EHL de 16 e com o P-1670, que exibiu um valor de EHL de 15. Porém, além do valor de EHL, o tamanho da cadeia de carbonos influenciou as capacidades dos ésteres de potenciarem a dissolução do fármaco, pois o L-1695, cuja cadeia contém 12 carbonos, foi o que promoveu a libertação mais rápida e quantidade do fármaco, ao passo que, o M-1695, com 14 carbonos na sua cadeia e o P-1670, com 16 carbonos na sua cadeia, promoveram a libertação de uma menor quantidade de fármaco. Relativamente ao aumento da permeação cutânea, os pensos transdérmicos com ésteres de sacarose na sua composição permitiram uma permeação elevada do maleato de timolol, sendo que o L-1695 foi o éster que revelou maior fluxo de fármaco através da pele de rato. Na avaliação da potencial irritação cutânea, apenas o penso transdérmico constituído pelo L-1695 foi avaliado e comparado com um penso transdérmico controlo. Os autores registaram as perdas de água transepidérmica (PAT) provocadas por ambos e, ao compararem os valores de PAT provocadas pelos dois pensos, verificaram que o L-1695 permitiu um valor mais elevado, quando comparado com o penso-controlo, concluindo que existe uma correlação entre o valor de PAT e a quantidade de fármaco que penetrou na pele. Quanto à possível ocorrência de eritema, ambos os pensos provocaram uma irritação moderada na pele, após 6 horas de contato com a pele e os autores atribuíram estes resultados ao efeito oclusivo que o maleato de timolol exerce na mesma. Na avaliação da promoção da absorção, um penso com 30 mg de maleato de timolol e L-1695 foi avaliado em relação à sua capacidade de promoção de absorção do fármaco e comparado com uma solução oral de 30 mg de maleato de timolol. Os autores registaram que a absorção do fármaco veiculado no penso foi mais lenta e durou mais tempo do que a absorção do fármaco veiculado pela solução oral, pois o penso libertou uma grande quantidade de fármaco durante as primeiras 12 horas e permitiu concentrações plasmáticas de fármaco estáveis durante 18 horas e, apesar de ter exibido uma concentração plasmática máxima inferior à da solução oral, exibiu concentrações plasmáticas do fármaco mais elevadas entre as 8 e as 24 horas. A extensão da absorção do fármaco em ambas as formulações foi determinada através do cálculo da área sob a curva (AUC_{0-t}), sendo que o penso revelou um AUC₀₋₂₄ de 632.5 ng h/mL e a solução oral revelou um AUC₀₋₂₄ de 388.79 ng h/mL. A biodisponibilidade relativa do penso de maleato de timolol em relação à solução oral também foi calculada e o valor obtido foi cerca de 163% e os autores concluíram que o

penso transdérmico constituído por L-1695 potenciou a absorção do maleato de timolol e aumentou a biodisponibilidade do mesmo.

Csóka et al. (2007) aplicaram ésteres de sacarose na preparação de pensos transdérmicos controlados por matriz e por membrana e investigaram as suas capacidades como potenciais promotores de libertação e absorção *in vitro* do metoprolol, um fármaco pouco solúvel em água. Os ésteres de sacarose utilizados foram os estearatos de sacarose comerciais S-370, S-970 e S-1670, com valores de EHL de 3, 9 e 16, respetivamente, o palmitato de comercial P-1570, com um valor de EHL de 15, o miristato de sacarose comercial M-1695 e o laurato de sacarose comercial L-1695, ambos com valores de EHL de 16. Em concordância com estudos anteriormente mencionados, os autores observaram todos os ésteres de sacarose promoveram a libertação mais rápida e de maior quantidade de metoprolol que os pensos controlo e o L-1695 incorporado em ambos os pensos foi o éster que permitiu a libertação mais rápida e de maior quantidade de fármaco no meio. Os autores também constataram que a libertação do fármaco foi afetada pelo tamanho da cadeia de carbonos e pelo valor de EHL dos ésteres de sacarose, na medida em que quanto maior o EHL e menor a cadeia de carbonos, maior quantidade de fármaco foi libertada para o meio e justificam este fenómeno com a maior facilidade dos ésteres de sacarose de cadeias mais curtas de se inserirem nas cadeias poliméricas e aumentarem a permeabilidade do polímero. Como os pensos transdérmicos controlados por matriz revelaram cinética de ordem zero na libertação do metoprolol, foram utilizados no estudo de absorção *in vitro* e os autores verificaram que, tal como no estudo sobre a libertação do metoprolol, o L-1695 foi o éster que permitiu a absorção de maior quantidade ao longo do tempo e a maior constante de absorção.

5.8. Promoção da absorção oral de fármacos

Os ésteres de sacarose, tal como outros surfactantes, possuem a capacidade de interagir com as membranas biológicas e de alterar a fluidez da membrana epitelial intestinal e, como tal, promovem a absorção de fármacos pouco solúveis em água. Assim, são utilizados como excipientes em formulações destinadas a administração oral de fármacos no sentido de aumentarem a sua biodisponibilidade. (Aungst, 2000) Por exemplo, o laurato de sacarose L-1695 foi utilizado como excipiente numa formulação de soluções de ciclosporina A, de forma a ser estudado em relação às suas capacidades promotoras da absorção oral do fármaco. (Lerk & Sucker, 1993b) Os autores escolheram o epitélio do intestino grosso de porquinhos-da-Índia e de placas de Peyer e compararam uma solução oral comercial de ciclosporina A, uma solução de ciclosporina A em fluido biliar e duas soluções de ciclosporina, contendo 1 e 10% de L-1695 na sua composição. A solução oral comercial revelou promover baixa absorção do fármaco em ambos os tecidos ao passo que, as duas formulações de L-1695 promoveram a absorção de maior quantidade de ciclosporina A, especialmente a formulação de 10% de L-1695. Os autores também investigaram as capacidades promotoras da absorção do L-1695, quando incorporado como excipiente numa formulação sólida, e constataram que o éster permitiu a dissolução de 90% da ciclosporina A apenas em 14 horas, devido a outros excipientes higroscópicos. No entanto, afirmam que o L-1695 revelou ser eficiente como promotor da absorção oral e que, na preparação de formulações sólidas de L-1695 como excipiente, é imperativo escolher os restantes excipientes adequados.

Ganem-Quintanar, Quintanar-Guerrero, Falson-Rieg, & Buri (1998) prepararam várias soluções de hidrocloreto de lidocaína a 10% (p/p) cujos veículos escolhidos foram o laurato de sacarose comercial L-1695, o estearato de sacarose comercial S-1670, o oleato de sacarose comercial O-1570 e o palmitato de sacarose comercial P-1570, o Transcutol®, o etanol, o ácido oleico e a água e compararam os efeitos que estes produzem na permeação do hidrocloreto de lidocaína através da mucosa bucal e palatina de porco. Os autores escolheram mucosas provenientes de locais anatómicos diferentes para verificar capacidade dos veículos de promoverem a absorção oral do fármaco em mucosas com diferentes características histológicas e permeabilidade. A solução constituída por 1.5% (p/v) de L-1695 revelou promover a permeação do hidrocloreto de lidocaína através da mucosa bucal, no entanto, não promoveu a permeação do fármaco através da mucosa palatina. As soluções constituídas pelos

restantes ésteres, por sua vez, não exibiram capacidades promotoras da permeação do fármaco através das duas mucosas. Após o estudo da permeação *in vitro*, os autores extraíram o hidrocloreto de lidocaína presente nos tecidos tratados pelas várias soluções e constataram que a maior quantidade foi extraída da mucosa palatina tratada com a solução de L-1695, ao passo que a solução de etanol permitiu a extração de maior quantidade de fármaco da mucosa bucal. O efeito da concentração de L-1695 na promoção da permeação e absorção do hidrocloreto de lidocaína através das duas mucosas também foi estudado. Os autores prepararam soluções com concentrações de L-1695 de 0.15, 1.5 e 15% (p/v) e, constataram que a capacidade do L-1695 de promover a permeação e absorção do fármaco através da mucosa bucal é dependente da sua concentração, pois observaram que o L-1695 presente na concentração de 15% promoveu a permeação e absorção mais rápidas e de maior quantidade de fármaco. No entanto, o L-1695 em concentrações de 1.5 e 15% (p/v) promoveu a permeação e absorção de quantidades semelhantes do fármaco através da mucosa palatina e, perante os resultados, os autores concluíram que o L-1695 apresenta um perfil adequado como potencial promotor da permeação e absorção oral de fármacos e que é imperativo ter em conta alguns fatores como o local anatómico de aplicação e a sua concentração, aquando a sua utilização.

Num estudo sobre os seus efeitos no transporte da daunomicina através das células CaCo-2 do epitélio intestinal humano, 20 ésteres de sacarose e 10 ésteres de poliglicerol foram estudados e comparados com o verapamilo, um fármaco inibidor da P-glicoproteína. (Takaishi, Satsu, & Shimizu, 2006) O objetivo deste estudo foi verificar se os vários ésteres possibilitavam a acumulação de daunomicina nas células CaCo-2, através da inibição da P-glicoproteína e os autores defendem que, ao inibir esta proteína, os ésteres promovem a absorção intestinal de fármacos lipofílicos. De facto, os autores observaram que de todos os ésteres, apenas os ésteres de poliglicerol B-70D e o B-100D e os ésteres de sacarose S-170, S-370, P-170, O-170, L-195, B-370, ER-190 e ER-290 não promoveram a acumulação da daunomicina, devido ao seu baixo valor de EHL e ao seu elevado grau de esterificação, sendo que o éster que permitiu a maior acumulação de daunomicina foi o éster de sacarose S-1570 e o éster de poliglicerol L-10D. Os autores também verificaram se o éster de sacarose S-1570 e o éster de poliglicerol M-10D possuíam a capacidade de alterar o fluxo da daunomicina nas células CaCo-2 e de, consequentemente, inibirem a P-glicoproteína, comparando-os com o surfactante Tween 20® e o verapamilo. Os autores constataram que ambos os ésteres aumentaram o fluxo

da daunomicina da membrana apical para a membrana basal e a acumulação da mesma. No entanto, não foram eficazes na diminuição do fluxo da daumicina da membrana basal para a membrana apical, quando comparados com o Tween 20® e o verapamilo. Após os resultados, os autores sugeriram que ambos os ésteres não inibiram a P-glicoproteína e que a acumulação da daunomicina deve-se ao facto destes provocarem alterações na permeabilidade das membranas, tornando-os, assim, potenciais promotores da absorção oral de fármacos.

5.9. Promoção da absorção de fármacos administrados por outras vias

Além da promoção da absorção de fármacos administrados oralmente, topicamente e transdermicamente, os ésteres de sacarose também potenciam a absorção de fármacos administrados pelas vias nasal e ocular. Por exemplo, o cocoato de sacarose comercial SL-40 foi utilizado por Ahsan, Arnold, Meezan, & Pillion (2003) na promoção da absorção da insulina humana (Humulin®, 100 U/mL) e da calcitonina de salmão (Miacalcin®, 200 U/mL), quando administradas nasal e ocularmente em ratos. Para a administração nasal de insulina, três formulações de 0.5 U de insulina com 0.125, 0.25 e 0.5% de SL-40 foram administradas e comparadas com uma formulação sem cocoato de sacarose na sua composição. Os autores observaram que, a administração das três formulações de SL-40, promoveu um aumento dos níveis plasmáticos de insulina, sendo que a formulação composta por 0.5% de SL-40 promoveu um aumento até 200 μ U/mL. Os autores também constataram que o tempo máximo das três formulações foi de 10 minutos após a administração e os valores de AUC₀₋₆₀ foram de 6200 μ U min/mL. Após à administração de um colírio de insulina com 0.5% de SL-40 na sua formulação, os autores verificaram que as concentrações plasmáticas da insulina aumentaram de 5 μ U/mL para 59 μ U/mL, a um tempo máximo de 20 minutos. No entanto os valores de AUC₀₋₆₀ foram de 2560 μ U min/mL. A administração nasal de uma formulação constituída por 2.2 U de calcitonina e por 0.5% de SL-40 provocou um aumento da concentração plasmática da calcitonina de 100 pg/mL para 400 pg/mL a um tempo máximo de 10 minutos e uma redução de 15% de cálcio presente no plasma ao passo que a administração nasal da formulação constituída apenas por 2.2 U de calcitonina não provocou alterações significativas das concentrações plasmáticas da calcitonina e da quantidade de cálcio presente no plasma. Por sua vez, a administração do colírio constituído por 2.2 U de calcitonina e por 5% de SL-40 não aumentou significativamente as concentrações plasmáticas da calcitonina nem reduziu a quantidade de cálcio presente no plasma. Assim, os autores prepararam um colírio formulado com 22 U de calcitonina e 0.5% de SL-40 e após a sua administração, observaram um aumento das concentrações plasmáticas da calcitonina a um tempo máximo de 20 minutos e a redução de cálcio presente no plasma.

Kürti et al. (2012) levaram a cabo um estudo com o intuito de investigarem os efeitos que o laurato e o miristato de sacarose, o Tween 80® e o Cremophor RH40® exercem nas células RPMI 2650 provenientes do epitélio nasal humano. Para tal, os

autores efetuaram testes de citotoxicidade celular, medições da resistência transepitelial elétrica e testes de permeabilidade celular. Relativamente à determinação da potencial citotoxicidade, os autores realizaram quatro métodos diferentes como o método do sensoriamento eletrônico celular em tempo real, o teste da conversão de MTT, a libertação de LHD e o método de coloração do núcleo celular. No método de sensoriamento eletrônico celular em tempo real, três soluções com concentrações de 0.1, 0.3 e 1 mg/mL para cada éster e os resultados demonstraram que ambos os ésteres presentes em concentrações superiores a 0.1 mg/mL diminuem a viabilidade celular, sendo esta diminuição mais acentuada por concentrações mais elevadas dos mesmos. Por sua vez, as soluções de Tween 80® e de Cremophor RH40®, exceto a solução de Tween 80® a uma concentração de 10 mg/mL, não diminuíram o índice celular. Nos testes de conversão de MTT e de libertação de LHD, o laurato de sacarose revelou toxicidade quando presente em concentrações de 0.3 mg/mL e de 1 mg/mL, ao passo que o miristato de sacarose exibiu toxicidade quando presente em concentrações iguais e superiores a 0.1 mg/mL. O teste de coloração do núcleo celular revelou que ambos os ésteres de sacarose exibiram toxicidade quando presentes em concentrações de 1 mg/mL e que o Tween 20®, quando presente em concentrações de 5mg/mL, também é tóxico. A medição da resistência transepitelial elétrica expressa a permeabilidade das *tight junctions* aos íons de sódio e, ambos os ésteres promoveram uma redução da mesma, quando presentes em concentrações de 0.1 mg/m, ao passo que o Tween 80® apenas provocou uma redução quando presente em concentrações de 10mg/mL. O Cremophor RH40®, por sua vez, não produziu alterações significativas. Os testes de permeabilidade paracelular foram realizados com o auxílio do dextrano marcado com isotiocianato de fluoresceína e, de todos os surfactantes analisados a concentrações de 0.1 mg/mL, o laurato de sacarose foi o que promoveu o maior aumento coeficiente de permeabilidade do dextrano, ao passo que o miristato de sacarose foi o surfactante que foi menos eficaz no aumento da permeabilidade paracelular. Os autores, após os resultados, concluíram que os ésteres de sacarose constituem excipientes alternativos para a preparação de formulações nasais, no entanto, é imperativo estabelecer concentrações dos mesmos que não exibam citotoxicidade.

6. Conclusão

Na atualidade, o desenvolvimento de metodologias e a utilização de matérias-primas renováveis e não prejudiciais para o ambiente é emergente. Os ésteres de sacarose, devido à sua biodegradabilidade e atoxicidade, são abundantemente utilizados como aditivos alimentares, na produção de cosméticos e de produtos farmacêuticos. São surfactantes não-iônicos e compostos anfífilos e, como tal, exibem propriedades emulgentes, espumantes, detergentes, molhantes, estabilizantes e possuem a capacidade de formação de geles. Porém, as suas propriedades dependem de vários parâmetros como o seu valor de EHL, o seu carácter hidrofílico-lipofílico, o tamanho da sua cadeia de carbonos e o seu grau de esterificação.

A sua produção envolve a síntese química e a síntese enzimática e, ao longo do tempo, as especificações destes métodos têm sofrido alterações relativamente à escolha do solvente, do catalisador e das condições das reações, no sentido de promover uma produção mais segura para o ambiente e para o consumidor.

A utilização de ésteres de sacarose na produção de produtos farmacêuticos é vasta e, tal como as suas propriedades, depende dos fatores anteriormente referidos. Os ésteres de sacarose com valores de EHL superiores a 8 são mais adequados para a emulsificação e estabilização de emulsões, de microemulsões e de nanoemulsões apropriadas para a administração tópica e transdérmica de fármacos, pois promovem uma redução mais acentuada da tensão interfacial e evitam a ocorrência de fenómenos de instabilidade.

Como foi mencionado anteriormente nesta exposição, os ésteres de sacarose também são utilizados na preparação de formulações destinadas à administração transdérmica de fármacos pois não são agressivos para a pele, alteram a permeabilidade cutânea através do aumento da fluidez da membrana, devido à sua interação com as estruturas lipídicas intercelulares constituintes do *stratum corneum*, promovendo, assim, a permeação e a penetração de fármacos. A utilização de ésteres de sacarose como surfactantes permite a produção de niossomas e proniossomas adequados para o transporte de fármacos e potencia a penetração e a libertação dos mesmos através da pele. Contudo, a penetração e libertação do fármaco depende da elasticidade e das dimensões dos niossomas, bem como do tamanho da cadeia de carbonos e do valor de EHL dos ésteres de sacarose.

O seu emprego na formulação de nanopartículas sólidas lipídicas promove a formação de nanopartículas de tamanho adequado à via de administração do fármaco destinadas a veicular, permite uma maior eficiência de encapsulação dos mesmos, evita a agregação das nanopartículas lipídicas sólidas, quando formuladas em suspensões, promovem a sua estabilidade física durante o seu armazenamento e permitem que estas não sofram deformações quando expostas forças deformadoras, tornando-as, assim, adequadas para administração parentérica, tópica e transdérmica de fármacos.

Como foi mencionado anteriormente, os fármacos são convencionalmente administrados oralmente e, como tal, o desenvolvimento de técnicas para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água é crucial. Devido à sua capacidade de aumentarem a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água, os ésteres de sacarose são utilizados em várias formulações destinadas à administração oral de diversos fármacos, com o intuito de promoverem a dissolução e, consequente libertação, dos mesmos no Trato Gastrointestinal. Os ésteres de sacarose de carácter hidrofílico exibem maior capacidade de potenciar a dissolução dos fármacos e promover a estabilidade das formulações onde estão incorporados, no entanto, para o seu efeito promotor ser aproveitado na totalidade, é necessário ter em conta o tipo de formulação, o método de preparação, as propriedades físico-químicas do fármaco em questão, o seu valor de EHL e o tamanho da sua cadeia de carbonos.

Os ésteres de sacarose, ao serem utilizados na preparação de formulações destinadas a administração oral de fármacos, são também capazes de modular a libertação dos mesmos. De facto, os ésteres de sacarose possuem a capacidade de promover a libertação prolongada e a libertação controlada de fármacos e esta capacidade revela ser afetada pelas propriedades físico-químicas dos fármacos, pelo valor de EHL que exibem e pela sua capacidade de formação de geles, na medida em que, os ésteres de sacarose que formam geles fortes promovem a libertação prolongada de fármacos.

Por último, vários estudos afirmam que os ésteres de sacarose promovem a absorção transdérmica, oral, nasal e ocular de fármacos, permitindo a existência de concentrações plasmáticas mais elevadas do que algumas formulações comerciais e aumentam a sua biodisponibilidade. Contudo, para a preparação de formulações destinadas à administração nasal e ocular, é imperativo utilizar a concentração adequada de ésteres de sacarose, pois podem exibir toxicidade a partir de determinadas concentrações.

7. Referências Bibliográficas

- Abd-Elbary, A., El-Laithy, H. M., & Tadros, M. I. (2008). Sucrose stearate-based proniosome-derived niosomes for the nebulisable delivery of cromolyn sodium. *International Journal of Pharmaceutics*, 357(1-2), 189–198. doi:10.1016/j.ijpharm.2008.01.056
- Abdel-Mageed, H. M., El-Laithy, H. M., Mahran, L. G., Fahmy, A. S., Mäder, K., & Mohamed, S. a. (2012). Development of novel flexible sugar ester vesicles as carrier systems for the antioxidant enzyme catalase for wound healing applications. *Process Biochemistry*, 47(7), 1155–1162. doi:10.1016/j.procbio.2012.04.008
- Ahsan, F., Arnold, J. J., Meezan, E., & Pillion, D. J. (2003). Sucrose cocoate , a component of cosmetic preparations , enhances nasal and ocular peptide absorption. *International Journal of Pharmaceutics*, 251(1-2), 195–203.
- Akoh, C. C. (1992). Emulsification properties of polyesters and sucrose ester blends I: carbohydrate fatty acid polyesters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(1), 9–13. doi:10.1007/BF02635868
- Akoh, C., & Swanson, B. (1990). Optimized synthesis of sucrose polyesters: comparison of physical properties of sucrose polyesters, raffinose polyesters and salad oils. *Journal of Food Science*, 55(1), 236–243. doi:10.1111/j.1365-2621.1990.tb06060.x
- Allémann, E., Leroux, J., & Gurny, R. (1998). Polymeric nano- and microparticles for the oral delivery of peptides and peptidomimetics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 34(2-3), 171–189. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10837677>
- Almeida, A. J., & Souto, E. (2007). Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 478–490. doi:10.1016/j.addr.2007.04.007
- Alsarra, I. a, Bosela, a a, Ahmed, S. M., & Mahrous, G. M. (2005). Proniosomes as a drug carrier for transdermal delivery of ketorolac. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 59(3), 485–490. doi:10.1016/j.ejpb.2004.09.006
- Aungst, B. J. (2000). Intestinal Permeation Enhancers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89(4), 429–442.
- Ayala-Bravo, H. A., Quintanar-Guerrero, D., Naik, A., Kalia, Y. N., Cornejo-Bravo, J. M., & Ganem-Quintanar, A. (2003). Effects of sucrose oleate and sucrose laureate on in vivo human stratum corneum permeability. *Pharmaceutical Research*, 20(8), 1267–1273. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12948025>

- Baczko, K., Nugier-chauvin, C., Banoub, J., Thibault, P., & Plusquellec, D. (1995). A new synthesis of 6-O-acylsucroses and of mixed 6,6'-di-O-acylsucroses. *Carbohydrate Research*, 269(1), 79–88.
- Ballesteros, A., Plou, F., & Alcalde, M. (2006). Enzymatic synthesis of sugar esters and oligosaccharides from renewable resources. In R. N. Patel (Ed.), *Biocatalysis in the pharmaceutical and biotechnology industries* (pp. 463–488). Boca Raton, EUA: CRC Press. Disponível em <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Enzymatic+Synthesis+of+Sugar+Esters+and+Oligosaccharides+from+Renewable+Resources#0>
- Barghava, A., Rathore, R. P. S., Tanwar, Y. S., Gupta, S., & Bhaduka, G. (2013). Oral sustained release dosage form: an opportunity to prolong the release of drug. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical and Bio Sciences*, 3(1), 7–14.
- Bibette, J., & Leal-Calderon, F. (1996). Surfactant-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 1(6), 746–751. doi:10.1016/S1359-0294(96)80076-8
- Bielinska, A. U., Janczak, K. W., Landers, J. J., Makidon, P., Sower, L. E., Peterson, J. W., & Baker, J. R. (2007). Mucosal immunization with a novel nanoemulsion-based recombinant anthrax protective antigen vaccine protects against *Bacillus anthracis* spore challenge. *Infection and Immunity*, 75(8), 4020–4029. doi:10.1128/IAI.00070-07
- Bolzinger, M. A., Thevenin, Carduner, C., & Poelman, M. . (1998). Bicontinuous sucrose ester microemulsion: a new vehicle for topical delivery of niflumic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 176(1), 39–45. doi:10.1016/S0378-5173(98)00292-0
- Bolzinger-Thevenin, M. A., Grossiord, J. L., & Poelman, M. C. (1999). Characterization of a sucrose ester microemulsion by freeze fracture electron micrograph and small Angle neutron scattering experiments. *Langmuir*, 15(7), 2307–2315. doi:10.1021/la9804278
- Bordusa, F. (2002). Proteases in organic synthesis. *Chemical Reviews*, 102(12), 4817–4868. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12475208>
- Brannon-Peppas, L., & Blanchette, J. O. (2004). Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(11), 1649–1659. doi:10.1016/j.addr.2004.02.014
- Brasseur, N., Brault, D., & Couvreur, P. (1991). Adsorption of hematoporphyrin onto polyalkylcyanoacrylate nanoparticles: carrier capacity and drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 70(1-2), 129–135.
- Calderilla-Fajardo, S. B., Cázares-Delgadillo, J., Villalobos-García, R., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A., & Robles, R. (2006). Influence of sucrose esters on the in vivo percutaneous penetration of octyl methoxycinnamate

formulated in nanocapsules, nanoemulsion, and emulsion. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 32(1), 107–13. doi:10.1080/03639040500388540

Carrea, G., Riva, S., & Secundo, F. (1989). Enzymatic synthesis of various 1'-O-sucrose and 1-O-fructose esters. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 1(5), 1057–1061.

Carvalho, F. De, Ferreira, V. F., & Rocha, D. R. da R. (2009). Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. *Química Nova*, 32(3), 623–638.

Cázares-Delgadillo, J., Naik, A., Kalia, Y. N., Quintanar-Guerrero, D., & Ganem-Quintanar, A. (2005). Skin permeation enhancement by sucrose esters: A pH-dependent phenomenon. *International Journal of Pharmaceutics*, 297(1-2), 204–212. doi:10.1016/j.ijpharm.2005.03.020

Cevc, G., & Blume, G. (2001). New, highly efficient formulation of diclofenac for the topical, transdermal administration in ultradeformable drug carriers, Transfersomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1514(2), 191–205. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11557020>

Cevc, Gregor, & Blume, G. (2003). Biological activity and characteristics of triamcinolone-acetonide formulated with the self-regulating drug carriers, Transfersomes®. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1614(2), 156–164. doi:10.1016/S0005-2736(03)00172-X

Chang, S., & Shaw, J. (2009). Biocatalysis for the production of carbohydrate esters. *New Biotechnology*, 26(3-4), 109–116. doi:10.1016/j.nbt.2009.07.003

Chansanroj, K., & Betz, G. (2010). Sucrose esters with various hydrophilic–lipophilic properties: Novel controlled release agents for oral drug delivery matrix tablets prepared by direct compaction. *Acta Biomaterialia*, 6(8), 3101–3109. doi:10.1016/j.actbio.2010.01.044

Chauvin, C., Baczko, K., & Plusquellec, D. (1993). New highly regioselective reactions of unprotected sucrose. Synthesis of 2-O-acylsucroses and 2-O-(N-alkylcarbamoyl) sucroses. *Journal of Organic Chemistry*, 58(8), 2291–2295. Disponível em <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo00060a053>

Chen, H., Chang, X., Du, D., Liu, W., Liu, J., Weng, T., ... Yang, X. (2006). Podophyllotoxin-loaded solid lipid nanoparticles for epidermal targeting. *Journal of Controlled Release*, 110(2), 296–306. doi:10.1016/j.jconrel.2005.09.052

Chester, T., & Owens, G. (1985). Separation of sucrose polyesters by capillary supercritical-fluid chromatography / flame ionization detection with robot-pulled capillary restrictors. *Analytical Chemistry*, 57(12), 2243–2247.

Christie, W. (1993). Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. In W. Christie (Ed.), *Advances in Lipid Methodology*

(Vol. 2, pp. 69–111). Dundee, Escócia: Oily Press. Disponível em http://lipidlibrary.aocs.org/topics/ester_93/file.pdf

Cruces, M. A., Plou, F. J., Ferrer, M., Bernabé, M., & Ballesteros, A. (2001). Improved synthesis of sucrose fatty acid monoesters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(5), 541–546. doi:10.1007/s11746-001-0300-5

Csóka, G., Marton, S., Zelko, R., Otomo, N., & Antal, I. (2007). Application of sucrose fatty acid esters in transdermal therapeutic systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65(2), 233–237. doi:10.1016/j.ejpb.2006.07.009

D'Amato, V. (1959). Patente Americana N.º 3054789. EUA.

Daltin, D. (2011). Introdução e Primeiros Conceitos. In *Tensoativos: química, propriedades, aplicações* (pp. 1–43). São Paulo, Brasil: Edgard Blücher Ltda.

Damgé, C., Michel, C., Aprahamian, M., Couvreur, P., & Devissaguet, J. (1990). Nanocapsules as carriers for oral peptide delivery. *Journal of Controlled Release*, 13(2-3), 233–239. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016836599090013J>

Daniel, J. W., Marshall, C. J., Jones, H. F., & Snodin, D. J. (1979). The metabolism of beef tallow sucrose esters in rat and man. *Food and Cosmetics Toxicology*, 17(1), 19–21. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/437607>

Date, A. A., & Nagarsenker, M. S. (2007). Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil. *International Journal of Pharmaceutics*, 329(1-2), 166–172. doi:10.1016/j.ijpharm.2006.08.038

Demirel, M., Yazan, Y., Müller, R. H., Kiliç, F., & Bozan, B. (2001). Formulation and in vitro-in vivo evaluation of piribedil solid lipid micro- and nanoparticles. *Journal of Microencapsulation*, 18(3), 359–371. doi:10.1080/02652040010018119

Dias, M. L. N., Carvalho, J. P., Rodrigues, D. G., Graziani, S. R., & Maranhão, R. C. (2007). Pharmacokinetics and tumor uptake of a derivatized form of paclitaxel associated to a cholesterol-rich nanoemulsion (LDE) in patients with gynecologic cancers. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 59(1), 105–111. doi:10.1007/s00280-006-0252-3

EFSA (2004) Opinion of the scientific panel of food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on sucrose esters of fatty acid esters. E 473 and sucroglycerides, E474 based on a request from the comission related to sucrose esters of fatty acids. *The EFSA Journal*, (106), 1-24.

Ekambaram, P., Sathali, A. A. H., & Priyanka, K. (2012). Solid lipid nanoparticles: a review. *Scientific Reviews and Chemical Communications*, 2(1), 80–102.

- El-Laithy, H. M. (2009). Novel transdermal delivery of timolol maleate using sugar esters: preclinical and clinical studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72(1), 239–245. doi:10.1016/j.ejpb.2008.12.003
- El-Laithy, H., Shoukry, O., & Mahran, L. (2011). Novel sugar esters proniosomes for transdermal delivery of vinpocetine: Preclinical and clinical studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 77(1), 43–55. doi:10.1016/j.ejpb.2010.10.011
- Fanun, M. (2009a). Oil type effect on diclofenac solubilization in mixed nonionic surfactants microemulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 343(1-3), 75–82. doi:10.1016/j.colsurfa.2009.01.032
- Fanun, M. (2009b). Properties of microemulsions based on mixed nonionic surfactants and mixed oils. *Journal of Molecular Liquids*, 150(1-3), 25–32. doi:10.1016/j.molliq.2009.09.008
- Fanun, M. (2010). Properties of microemulsions with mixed nonionic surfactants and citrus oil. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 369(1-3), 246–252. doi:10.1016/j.colsurfa.2010.08.028
- Farone, W. A., & Serfass, R. S. (1998). Patente Americana N.º 5756716. EUA.
- Ferrer, M., Comelles, F., Plou, F. J., Cruces, M. A., Fuentes, G., Parra, J. L., & Ballesteros, A. (2002). Comparative surface activities of di- and trisaccharide fatty acid esters. *Langmuir*, 18(3), 667–673. doi:10.1021/la010727g
- Ferrer, M., Cruces, M. A., Bernabe, M., Ballesteros, A., & Plou, F. J. (1999). Lipase-catalyzed regioselective acylation of sucrose in two-solvent mixtures. *Biotechnology and Bioengineering*, 65(1), 10–16.
- Ferrer, M., Soliveri, J., Plou, F., López-Cortés, N., Reyes-Duarte, D., Christensen, M., ... Ballesteros, A. (2005). Synthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *Thermomyces lanuginosus* and *Candida antarctica* B, and their antimicrobial properties. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(4), 391–398. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022904003266>
- Feuge, R., & Zeringue, H. (1970). Preparation of sucrose esters by interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 47(2), 56–60. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/BF02541458>
- Fitremann, J., Queneau, Y., Maitre, J., & Bouchu, A. (2007). Co-melting of solid sucrose and multivalent cation soaps for solvent-free synthesis of sucrose esters. *Tetrahedron Letters*, 48(23), 4111–4114. doi:10.1016/j.tetlet.2007.04.015
- Foods, K. G., & Broadway, S. (1994). Enzymatic transesterification of sugars in anhydrous pyridine. *Biocatalysis*, 11(3), 241–248.

Freedman, B., Butterfield, R., & Pryde, E. (1986). Transesterification kinetics of soybean oil 1. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63(10), 1375–1380. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/BF02679606>

Fresta, M., Puglisi, G., Giammona, G., Cavallaro, G., Micali, N., & Furneri, P. M. (1995). Pefloxacin mesilate- and ofloxacin-loaded polyethylcyanoacrylate nanoparticles: characterization of the colloidal drug carrier formulation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84(7), 895–902. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7562444>

Gallegmore, H. R., James, K., Jones, H. F., & Bhardwaj, C. L. (1982). Patente Europeia N.º 0031191B1. Inglaterra. Disponível em <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>

Ganem-Quintanar, A., Quintanar-Guerrero, D., Falson-Rieg, F., & Buri, P. (1998). Ex vivo oral mucosal permeation of lidocaine hydrochloride with sucrose fatty acid esters as absorption enhancers. *International Journal of Pharmaceutics*, 173(1-2), 203–210. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517398002269>

Garofalakis, G., Murray, B., & Sarney, D. (2000). Surface activity and critical aggregation concentration of pure sugar esters with different sugar headgroups. *Journal of Colloid and Interface Science*, 229(2), 391–398. doi:10.1006/jcis.2000.7035

Garti, N., Aserin, A., & Fanun, M. (2000). Non-ionic sucrose esters microemulsions for food applications. Part 1. Water solubilization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 164(1), 27–38. doi:10.1016/S0927-7757(99)00389-1

Garti, N., Clement, V., Leser, M., Aserin, A., & Fanun, M. (1999). Sucrose ester microemulsions. *Journal of Molecular Liquids*, 80(2-3), 253–296. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732299800105>

Gasco, M. R. (2007). Lipid nanoparticles: perspectives and challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 377–378. doi:10.1016/j.addr.2007.05.004

Glatzer, O., Orthaber, D., Stradner, A., Scherf, G., Fanun, M., Garti, N., ... Leser, M. E. (2001). Sugar-Ester Nonionic Microemulsion: Structural Characterization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 241(1), 215–225. doi:10.1006/jcis.2001.7670

Gupta, A., Prajapati, S. K., Balamurugan, M., Bhatia, D., & Singh, M. (2007). Design and development of a proniosomal transdermal drug delivery system for captopril. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 6(2), 687–693.

Gupta, R., Gupta, N., & Rathi, P. (2004). Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(6), 763–81. doi:10.1007/s00253-004-1568-8

- Gupta, R., James, K., & Smith, F. J. (1983). Analysis of Sucrose Mono- and Diesters Prepared from Triglycerides Containing C12 -C18 Fatty Acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(11), 1908–1913.
- Gurr, M. I., Harwood, J. L., & Frayn, K. N. (2002). Fatty acid structure and metabolism. In M. I. Gurr, J. L. Harwood, & K. N. Frayn (Eds.), *Lipid biochemistry: an introduction* (5^o Edição., pp. 13–91). Berlim, Alemanha: Blackwell Science Ltd.
- Hahn, L., & Sucker, H. (1989). Solid surfactant solutions of active ingredients in sugar esters. *Pharmaceutical Research*, 6(11), 958–960.
- Haines, B. Y. A. H. (1981). The selective removal of protecting groups in carbohydrate chemistry. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 39(1), 1–44.
- Heng, P. W. S., Wong, T. W., & Cheong, W. S. (2003). Investigation of melt agglomeration process with a hydrophobic binder in combination with sucrose stearate. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 19(5), 381–393. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12907289>
- Hill, K., & Rhode, O. (1999). Sugar-based surfactants for consumer products and technical applications. *Fett-Lipid*, 101(1), 25–33. Disponível em <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9781420051674.ch1>
- Hoar, T. P., & Schulman, J. H. (1943). Transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle. *Nature*, 152(3847), 102–103.
- Honeywell-nguyen, P. L., Arenja, S., & Bouwstra, J. A. (2003). Skin penetration and mechanisms of action in the delivery of the d2 -agonist rotigotine from surfactant-based elastic vesicle formulations. *Pharmaceutical Research*, 20(10), 1619–1625.
- Honeywell-Nguyen, P. L., & Bouwstra, J. A. (2003). The in vitro transport of pergolide from surfactant-based elastic vesicles through human skin: a suggested mechanism of action. *Journal of Controlled Release*, 86(1), 145–156. Disponível em R <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490380>
- Honeywell-Nguyen, P. L., & Bouwstra, J. A. (2005). Vesicles as a tool for transdermal and dermal delivery. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2(1), 67–74. doi:10.1016/j.ddtec.2005.05.003
- Honeywell-Nguyen, P. L., Frederik, P. M., Bomans, P. H. H., Junginger, H. E., & Bouwstra, J. A. (2002). Transdermal delivery of pergolide from surfactant-based elastic and rigid vesicles: characterization and in vitro transport studies. *Pharmaceutical Research*, 19(7), 991–997. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12180552>

- Horoz, B., Kiliçarslan, M., Yüksel, N., & Baykara, T. (2006). Influence of aluminum tristearate and sucrose stearate as the dispersing agents on physical properties and release characteristics of Eudragit RS microspheres. *AAPS PharmSciTech*, 10(1), E1–E7. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1208/pt070116>
- Hoydonckx, H., Vos, D., Chavan, S., & Jacobs, P. (2004). Esterification and transesterification of renewable chemicals. *Topics in Catalysis*, 27(1-4), 83–96. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1023/B:TOCA.0000013543.96438.1a>
- Hu, C., & Rhodes, D. G. (2000). Proniosomes: a novel drug carrier preparation. *International Journal of Pharmaceutics*, 206(1-2), 110–122.
- Huang, J., & Moriyoshi, T. (2008). Preparation of stabilized lidocaine particles by a combination of supercritical CO₂ technique and particle surface control. *Journal of Materials Science*, 43(7), 2323–2327. doi:10.1007/s10853-007-2026-7
- Husband, F. A., Sarney, D. B., Barnard, M. J., & Wilde, P. J. (1998). Comparison of foaming and interfacial properties of pure sucrose monolaurates, dilaurate and commercial preparations. *Food Hydrocolloids*, 12(2), 237–244.
- Isha, C., Nimrata, S., Rana, A., & Surbhi, G. (2012). Oral sustained release drug delivery system: an overview. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(5), 57–62. Disponível em <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:ORAL+SUSTAINED+RELEASE+DRUG+DELIVERY+SYSTEM++AN+OVERVIEW#0>
- Jaeger, K. E., & Reetz, M. T. (1998). Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 16(9), 396–403. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9744114>
- Jain, S., Jain, P., Umamaheshwari, R. B., & Jain, N. K. (2003). Transfersomes—a novel vesicular carrier for enhanced transdermal delivery: development, characterization, and performance evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 29(9), 1013–1026. doi:10.1081/DDC-120025458
- James, K., & Smith, F. J. (2008). Patente Americana N.º 2008/0071079A1. EUA.
- Janssen, A., Lefferts, A., & van't Riet, K. (1990). Enzymatic synthesis of carbohydrate esters in aqueous media. *Biotechnology Letters*, 12(10), 711–716.
- Jarosz, S., & Mach, M. (2002). Regio- and stereoselective transformations of sucrose at the terminal positions. *European Journal of Organic Chemistry*, 2002(5), 769–780. Disponível em [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1099-0690\(200203\)2002:5%3C769::AID-EJOC769%3E3.0.CO;2-F/full](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1099-0690(200203)2002:5%3C769::AID-EJOC769%3E3.0.CO;2-F/full)

- Jaspers, M., van Leeuwen, F., Nieuwenhuis, H., & Vianen, G. (1987). High performance liquid chromatographic separation of sucrose fatty acid esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 64(1-3), 1020–1025.
- Kennedy, J. F., Kumar, H., Panesar, P. S., Marwaha, S. S., Goyal, R., Parmar, A., & Kaur, S. (2006). Enzyme-catalyzed regioselective synthesis of sugar esters and related compounds. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81(6), 866–876. doi:10.1002/jctb
- Kim, J. E., Han, J. J., Yoon, J. H., & Rhee, J. S. (1998). Effect of salt hydrate pair on monoacylation of sucrose. *Biotechnology and bioengineering*, 57(1), 121–125.
- Klang, V, Matsko, N., & Raupach, K. (2011). Development of sucrose stearate-based nanoemulsions and optimisation through γ -cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79(1), 58–67. doi:10.1016/j.ejpb.2011.01.010
- Klang, Victoria, Matsko, N., Zimmermann, A.-M., Vojnikovic, E., & Valenta, C. (2011). Enhancement of stability and skin permeation by sucrose stearate and cyclodextrins in progesterone nanoemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 393(1-2), 152–160. doi:10.1016/j.ijpharm.2010.04.029
- Koeller, K. M., & Wong, C. H. (2001). Enzymes for chemical synthesis. *Nature*, 409(6817), 232–40. doi:10.1038/35051706
- Koseki, T., Onishi, H., Takahashi, Y., Uchida, M., & Machida, Y. (2009). Preparation and evaluation of novel directly-compressed fast-disintegrating furosemide tablets with sucrose stearic acid ester. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(6), 1126–1130.
- Kumar, A., Sahoo, S., Padhee, K., Kochar, P. P. S., Satapathy, A., & Pathak, N. (2011). Review on solubility enhancement techniques for hydrophobic drugs. *International Journal of Comprehensive Pharmacy*, 3(3), 1–7. Disponível em http://www.pharmacie-globale.info/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=133&Itemid=37
- Kunieda, H., Ushio, N., Ano, A. N., & Miura, M. (1993). Three phase-behaviour in a mixed sucrose alkanoate and polyethyleneglycol alkyl ether system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 159(1), 37–44.
- Kürti, L., Veszélka, S., Bocsik, A., Dung, N. T. K., Ozsvári, B., Puskás, L. G., ... Deli, M. a. (2012). The effect of sucrose esters on a culture model of the nasal barrier. *Toxicology in Vitro*, 26(3), 445–454. doi:10.1016/j.tiv.2012.01.015
- Lerk, P., & Sucker, H. (1993a). Application of sucrose laurate in topical preparations of cyclosporin A. *International Journal of Pharmaceutics*, 92(1-3), 203–210. doi:10.1016/0378-5173(93)90281-J

- Lerk, P., & Sucker, H. (1993b). Application of sucrose laurate, a new pharmaceutical excipient, in peroral formulations of cyclosporin A. *International Journal of Pharmaceutics*, 92(1-3), 197–202. doi:10.1016/0378-5173(93)90280-S
- Lichtenthaler, F. (1991). Carbohydrates as organic raw materials. *Starch*, 43(12), 492–525.
- Lichtenthaler, F., & Peters, S. (2004). Carbohydrates as green raw materials for the chemical industry. *Comptes Rendus Chimie*, 7(2), 65–90. doi:10.1016/j.crci.2004.02.002
- Lippacher, A., Müller, R. H., & Mäder, K. (2002). Semisolid SLN dispersions for topical application: influence of formulation and production parameters on viscoelastic properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53(2), 155–160. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11879997>
- Lu, B., Xiong, S.-B., Yang, H., Yin, X.-D., & Chao, R.-B. (2006). Solid lipid nanoparticles of mitoxantrone for local injection against breast cancer and its lymph node metastases. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 28(1-2), 86–95. doi:10.1016/j.ejps.2006.01.001
- Luo, Y., Chen, D., Ren, L., Zhao, X., & Qin, J. (2006). Solid lipid nanoparticles for enhancing vinpocetine's oral bioavailability. *Journal of Controlled Release*, 114(1), 53–59. doi:10.1016/j.jconrel.2006.05.010
- Lv, Q., Yu, A., Xi, Y., Li, H., Song, Z., Cui, J., ... Zhai, G. (2009). Development and evaluation of penciclovir-loaded solid lipid nanoparticles for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 372(1-2), 191–198. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.01.014
- Maia, C. S., Mehnert, W., & Schäfer-Korting, M. (2000). Solid lipid nanoparticles as drug carriers for topical glucocorticoids. *International Journal of Pharmaceutics*, 196(2), 165–167. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10699710>
- Marcato, P. D. (2009). Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas sólidas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 6(2), 1–37.
- Mehta, S. K., & Kaur, G. (2001). Microemulsions : thermodynamic and dynamic properties. In M. Tadashi (Ed.), *Thermodynamics* (pp. 381–406). Nova Iorque, EUA: Krieger Publishers.
- Michaels, A. S., Chandrasekaran, S. K., & Shaw, J. E. (1975). Drug permeation through human skin: theory and in vitro experimental measurement. *AIChE journal*, 21(5), 985–996.

- Mima, H., & Kitamori, N. (1956). Chromatographic analysis of sucrose esters of long chain fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 41(3), 198–200.
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2006). Nanoparticles – a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1), 561–573.
- Molinier, V., Fitremann, J., Bouchu, A., & Queneau, Y. (2004). Sucrose esterification under Mitsunobu conditions: evidence for the formation of 6-O-acyl-3',6'-anhydrosucrose besides mono and diesters of fatty acids. *Tetrahedron: Asymmetry*, 15(11), 1753–1762. doi:10.1016/j.tetasy.2004.04.021
- Molinier, V., & Wisniewski, K. (2003). Transesterification of sucrose in organic medium: study of acyl group migrations. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 22(7-8), 657–669. doi:10.1081/CAR-120026466
- Moulik, S. P., & Paul, B. K. (1998). Structure, dynamics and transport properties of microemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 78(2), 99–195. doi:10.1016/S0001-8686(98)00063-3
- Müller, C. R., Haas, S. E., Bassani, V. L., & Guterres, S. S. (2004). Degradação e estabilização do diclofenaco em nanocápsulas poliméricas. *Química Nova*, 27(4), 555–560.
- Müller, R. H., Mäder, K., & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 161–177. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10840199>
- Muzzalupo, R., Tavano, L., Cassano, R., Trombino, S., Ferrarelli, T., & Picci, N. (2011). A new approach for the evaluation of niosomes as effective transdermal drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79(1), 28–35. doi:10.1016/j.ejpb.2011.01.020
- Noker, P. E., Lin, T. H., Hill, D. L., & Shigeoka, T. (1997). Metabolism of ¹⁴C-labelled sucrose esters of stearic acid in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 35(6), 589–595. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9225017>
- Ntawukulilyayo, J. D., Bouckaert, S., & Remon, J. P. (1993). Enhancement of dissolution rate of nifedipine using sucrose ester coprecipitates. *International Journal of Pharmaceutics*, 93(1-3), 209–214. doi:10.1016/0378-5173(93)90179-J
- Ntawukulilyayo, J., Demuynck, C., & Remon, J. (1995). Microcrystalline cellulose-sucrose esters as tablet matrix forming agents. *International Journal of Pharmaceutics*, 121(2), 205–210. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037851739500021A>
- O'keefe, S. (2008). Nomenclature and classification of lipids. In C. Akoh & D. Min (Eds.), *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology* (2ª Edição., pp. 19–58). New York, EUA: Marcel Dekker, Inc. Disponível em

<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Food+Lipids:+Chemistry,+Nutrition,+and+Biotechnology#0>

Oh, K.-H., Baran, J. R., Wade, W. H., & Weerasooriya, V. (1995). Temperature insensitive microemulsion phase behavior with non-ionic surfactants. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 16(2), 165–188. doi:10.1080/01932699508943667

Okamoto, H., Sakai, T., & Danjo, K. (2005). Effect of sucrose fatty acid esters on transdermal permeation of lidocaine and ketoprofen. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(9), 1689–1694. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16141541>

Okumura, H., Kitazawa, N., Wada, S., & Hotta, H. (2011). Stability of sucrose fatty acid esters under acidic and basic conditions. *Journal of Oleo Science*, 60(6), 313–320.

Oliveira, A. G., Scarpa, M. V., Correa, M. A., Cera, L. F. R., & Formariz, T. P. (2004). Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Química Nova*, 27(1), 131–138.

Osipow, L., & Rosenblatt, W. (1967). Micro-emulsion process for the preparation of sucrose esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 44(5), 307–309. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/BF02635621>

Otsuka, M., & Matsuda, Y. (1995). Effect of cogrinding with various kinds of surfactants on the dissolution behavior of phenytoin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84(12), 1–4. Disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jps.2600841209/abstract>

Otsuka, M., Ofusa, T., & Matsuda, Y. (1998). Dissolution improvement of water-insoluble glybuzole by co-grinding and co-melting with surfactants and their physicochemical properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 10(4), 217–226. doi:10.1016/S0927-7765(97)00064-7

Park, E. S., Chang, S. Y., Hahn, M., & Chi, S. C. (2000). Enhancing effect of polyoxyethylene alkyl ethers on the skin permeation of ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics*, 209(1-2), 109–119. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11084251>

Park, H. G., & Chang, H. N. (2000). Enzymatic regioselective synthesis of sucrose acrylate esters. *Biotechnology Letters*, 22(1), 39–42.

Park, O. J., Jeon, G. J., & Yang, J. W. (1999). Protease-catalyzed synthesis of disaccharide amino acid esters in organic media. *Enzyme and Microbial Technology*, 25(3-5), 455–462. doi:10.1016/S0141-0229(99)00040-X

Parker, K. J., Khan, R. A., & Mufti, K. S. (1976). Patente Americana N.º 3996206. EUA.

- Paul, B. K., & Moulik, S. P. (2001). Uses and applications of microemulsions. *Current Science*, 80(8), 990–1001.
- Paula, A. V, Barboza, J. C. S., & Castro, H. F. (2005). Estudo da influência do solvente, carboidrato e ácido graxo na síntese enzimática de ésteres de açúcares. *Química Nova*, 28(9), 792–796.
- Pedersen, N., Wimmer, R., Emmersen, J., Degn, P., & Pedersen, L. (2002). Effect of fatty acid chain length of lipase-catalyzed esterification of disaccharides. *Carbohydrate Research*, 337(), 1179-1184.
- Pedersen, N. R., Wimmer, R., Matthiesen, R., Pedersen, L. H., & Gessesse, A. (2003). Synthesis of sucrose laurate using a new alkaline protease. *Tetrahedron: Asymmetry*, 14(6), 667–673. doi:10.1016/S0957-4166(03)00086-7
- Pes, M. A., Aramaki, K., Nakamura, N., & Kunieda, H. (1996). Temperature-Insensitive Microemulsions in a Sucrose Monoalkanoate System. *Journal of Colloid and Interface Science*, 178(2), 666–672. doi:10.1006/jcis.1996.0164
- Piao, H., Kamiya, N., Hirata, A., Fujii, T., & Goto, M. (2008). A novel solid-in-oil nanosuspension for transdermal delivery of diclofenac sodium. *Pharmaceutical Research*, 25(4), 896–901. doi:10.1007/s11095-007-9445-7
- Piccicuto, S., Blecker, C., Brohée, J., Mbampara, A., Lognay, G., Deroanne, C., ... Marlier, M. (2001). Les esters de sucres : voies de synthèse et potentialités d ' utilisation. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 5(4), 209–219.
- Pirvu, C. D., Hlevca, C., Ortan, A., & Razvan, P. (2010). Elastic vesicles as drug carriers through the skin. *Farmacia*, 58(2), 128–135.
- Polat, T., Bazin, H., & Linhardt, R. (1997). Enzyme catalyzed regioselective synthesis of sucrose fatty acid ester surfactants. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 16(9), 1319–1325. Disponível em <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07328309708005752>
- Polat, T., & Linhardt, R. J. (2001). Synthesis and applications of sucrose-based esters. *Journal of Surfactants and Detergents*, 4(4), 415–421.
- Prasanthi, I., & Lakshmi, P. K. (2012). Vesicles – mechanism of transdermal permeation: a review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(1), 18–25.
- Queneau, Y., Chambert, S., Besset, C., & Cheaib, R. (2008). Recent progress in the synthesis of carbohydrate-based amphiphilic materials: the examples of sucrose and isomaltulose. *Carbohydrate Research*, 343(12), 1999–2009. doi:10.1016/j.carres.2008.02.008
- Queneau, Y., Fitremann, J., & Trombotto, S. (2004). The chemistry of unprotected sucrose: the selectivity issue. *Comptes Rendus Chimie*, 7(2), 177–188. doi:10.1016/j.crci.2003.10.014

- Queneau, Y., Jarosz, S., Lewandowski, B., & Fitremann, J. (2007). Sucrose chemistry and applications of sucrochemicals. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 61(07), 217–92. doi:10.1016/S0065-2318(07)61005-1
- Ratilal, D. A., Priti, G. D., Bankar, V. H., & Pawar, S. P. (2011). A review on: sustained release technology. *Intenational Journal of Research on Ayureda and Pharmacy*, 2(6), 1701–1708. Disponível em http://www.npaa.in/npaa/ijta/IJTA_8_18-23.pdf
- Rich, J. O., Bedell, B. A., & Dordick, J. S. (1995). Controlling enzyme-catalyzed regioselectivity in sugar ester synthesis. *Biotechnology and Bioengineering*, 45(5), 426–434. doi:10.1002/bit.260450507
- Riva, S., & Chopineau, J. (1988). Protease-catalyzed regioselective esterification of sugars and related compounds in anhydrous dimethylformamide. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 110(2), 584–589. Disponível em <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja00210a045>
- Rizzi, G. P., & Taylor, H. M. (1976). Patente Americana N.º 3963699. EUA.
- Rustan, A. C., & Drevon, C. A. (2012). Fatty acids: structures and properties. In *Encyclopedia of Life Sciences* (pp. 1–7). Chichester, RU: John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.1038/npg.els.0003894
- Salager, J.-L. (1988). Basic theory, measurement, applications. In P. Becher (Ed.), *Encyclopedia of Emulsion Technology* (Vol. 3, pp. 79–134). Wilmington, EUA: Marcel Dekker, Inc. & Basel.
- Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. (2012). Drug solubility: importance and enhancement techniques. *International Scholarly Research Network Pharmaceutics*, 2012(195727), 1–10. doi:10.5402/2012/195727
- Schaefer, J. J., & Trout, J. E. (2011). Patente Americana N.º 7897699B2. EUA.
- Schaffazick, S. R., & Guterres, S. S. (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Quimica Nova*, 26(5), 726–737.
- Schmid, R. D., & Verger, R. (1998). Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. *Angewandte Chemie International Edition*, 37(12), 1608–1633.
- Schramm, L. L., Stasiuk, E. N., & Marangoni, D. G. (2003). Surfactants and their applications. *Annual Reports on the Progress of Chemistry Section C*, 99, 3–48. doi:10.1039/b208499f
- Schreief, H. (1994). Liposomes and niosomes as topical drug carriers : dermal and transdermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 30(1), 1–15.

- Schuchardt, U., Sercheli, R., & Matheus, R. (1998). Transesterification of vegetable oils : a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 9(1), 199–210. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50531998000300002&script=sci_arttext&tng=en
- Seino, H., Uchibori, T., Nishitani, T., & Inamasu, S. (1984). Enzymatic synthesis of carbohydrate esters of fatty acid (I) esterification of sucrose, glucose, fructose and sorbitol. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(11), 1761–1765. doi:10.1007/BF02582144
- Shafiq, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ahmad, F. J., Khar, R. K., & Ali, M. (2007). Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66(2), 227–243. doi:10.1016/j.ejpb.2006.10.014
- Silva, P. (2012). Funcionalização regioseletiva da sacarose e sua aplicação na síntese de novos materiais. (Tese de Doutorado). Universidade Nova de Lisboa.
- Soppimath, K. S., Aminabhavi, T. M., Kulkarni, a R., & Rudzinski, W. E. (2001). Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, 70(1-2), 1–20. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11166403>
- Soultani, S., Ognier, S., Engasser, J.-M., & Ghoul, M. (2003). Comparative study of some surface active properties of fructose esters and commercial sucrose esters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 227(1-3), 35–44. doi:10.1016/S0927-7757(03)00360-1
- Srinivas, D., Srivastava, R., & Ratnasamy, P. (2007). Patente Americana N.º 7754643B2. EUA.
- Sunil, S. A., Srikanth, M. V., Rao, N. S., Raju, V., & Murthy, K. V. R. (2012). Investigation on in vitro dissolution rate enhancement of indomethacin by using a novel carrier sucrose fatty acid ester. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 1–10. doi:10.1186/1560-8115-20-4
- Szűts, A., Budai-Szücs, M., Erős, I., Ambrus, R., Otomo, N., & Szabó-Révész, P. (2010). Study of thermosensitive gel-forming properties of sucrose stearates. *Journal of Excipients and Food Chemicals*, 1(2), 13–20. Disponível em <http://ojs.abo.fi/index.php/jefc/article/viewArticle/19>
- Szűts, A., Budai-Szücs, M., Erős, I., Otomo, N., & Szabó-Révész, P. (2010). Study of gel-forming properties of sucrose esters for thermosensitive drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 383(1-2), 132–137. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.09.013
- Szűts, A., Lang, P., Ambrus, R., & Kiss, L. (2011). Applicability of sucrose laurate as surfactant in solid dispersions prepared by melt technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 410(1-2), 107–110. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.03.033

- Szűts, A., Makai, Z., Rajkó, R., & Szabó-Révész, P. (2008). Study of the effects of drugs on the structures of sucrose esters and the effects of solid-state interactions on drug release. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(4), 1136–1142. doi:10.1016/j.jpba.2008.08.028
- Szűts, A., Pallagi, E., Regdon Jr, G., Aigner, Z., & Szabó-Révész, P. (2007). Study of thermal behaviour of sugar esters. *International Journal of Pharmaceutics*, 336(2), 199–207. doi:10.1016/j.ijpharm.2006.11.053
- Szűts, A., Sorrenti, M., & Catenacci, L. (2009). Investigation of the thermal and structural behaviour of diclofenac sodium-sugar ester surfactant systems. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 95(3), 885–890. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/s10973-008-9051-x>
- Szűts, A., & Szabó-Révész, P. (2012). Sucrose esters as natural surfactants in drug delivery systems--a mini-review. *International Journal of Pharmaceutics*, 433(2), 1–9. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.04.076
- Tadros, T. F. (2009). A general introduction. In T. F. Tadros (Ed.), *Emulsion science and technology* (pp. 1–56). Weinheim, Alemanha: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., & Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, 303–318. doi:10.1016/j.cis.2003.10.023
- Tahara, Y., Honda, S., Kamiya, N., Piao, H., Hirata, A., Hayakawa, E., ... Goto, M. (2008). A solid-in-oil nanodispersion for transcutaneous protein delivery. *Journal of Controlled Release*, 131(1), 14–18. doi:10.1016/j.jconrel.2008.07.015
- Takaishi, N., Satsu, H., & Shimizu, M. (2006). Enhanced daunomycin accumulation in human intestinal Caco-2 cells from non-ionic food emulsifiers unrelated to the P-glycoprotein inhibitory mechanism. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70(11), 2703–2711. doi:10.1271/bbb.60306
- Takeda, K., & Flood, M. (2002). Chronic toxicity and carcinogenicity of sucrose fatty acid esters in Fischer 344/DuCrj rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 35(2 Pt 1), 157–64. doi:10.1006/rtp.2001.1502
- Takegami, S., & Kitamura, K. (2008). Preparation and characterization of a new lipid nano-emulsion containing two cosurfactants, sodium palmitate for droplet size reduction and sucrose palmitate for stability enhancement. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(8), 1097–1102. Disponível em <http://japanlinkcenter.org/JST.JSTAGE/cpb/56.1097?from=Google>
- Tavano, L., Muzzalupo, R., Cassano, R., Trombino, S., Ferrarelli, T., & Picci, N. (2010). New sucrose cocoate based vesicles: Preparation, characterization and skin permeation studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 319–322. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.09.003

- Thakur, N., Garg, G., Sharma, P. K., & Kumar, N. (2012). Nanoemulsions : a review on various pharmaceutical application. *Global Journal of Pharmacology*, 6(3), 222–225. doi:10.5829/idosi.gjp.2012.6.3.65135
- Thakur, R., Anwer, M. K., Shams, M. S., Ali, A., Khar, R. K., Shakeel, F., & Taha, E. I. (2009). Proniosomal transdermal therapeutic system of losartan potassium: development and pharmacokinetic evaluation. *Journal of Drug Targeting*, 17(6), 442–449. doi:10.1080/10611860902963039
- Thevenin, M., Grossiord, J., & Poelman, M. (1996). Sucrose esters/cosurfactant microemulsion systems for transdermal delivery: assessment of bicontinuous structures. *International Journal of Pharmaceutics*, 137(2), 177–186. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378517396045188>
- Toutou, E., Dayan, N., Bergelson, L., Godin, B., & Eliaz, M. (2000). Ethosomes - novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. *Journal of Controlled Release*, 65(3), 403–418. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10699298>
- Trommer, H., & Neubert, R. H. H. (2006). Overcoming the stratum corneum: the modulation of skin penetration. A review. *Skin Pharmacology and Physiology*, 19(2), 106–21. doi:10.1159/000091978
- Uchegbu, I. F., & Vyas, S. P. (1998). Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 172(1-2), 33–70. doi:10.1016/S0378-5173(98)00169-0
- Uchegbu, I., & Florence, A. (1995). Non-ionic surfactant vesicles (niosomes): physical and pharmaceutical chemistry. *Advances in Colloid and Interface Science*, 58(1), 1–55. Disponível em [http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:NON-IONIC+SURFACTANT+VESICLES+\(NIOSONES\):+PHYSICAL+AND+PHARMACEUTICAL+CHEMISTRY#0](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:NON-IONIC+SURFACTANT+VESICLES+(NIOSONES):+PHYSICAL+AND+PHARMACEUTICAL+CHEMISTRY#0)
- Van Kuijk-Meuwissen, M. E., Junginger, H. E., & Bouwstra, J. A. (1998). Interactions between liposomes and human skin in vitro, a confocal laser scanning microscopy study. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1371(1), 31–39. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9565654>
- Van Lookeren, G. J. (1991). Patente Americana N.º 5055571. EUA.
- Vemula, V., Lagishetty, V., & Lingala, S. (2010). Solubility enhancement techniques. *International Journal of Pharmaceutical Review and Research*, 5(1), 41–51. Disponível em <http://globalresearchonline.net/journalcontents/volume5issue1/Article-007.pdf>
- Vermeire, A., De Muynck, C., Vandenbossche, G., Eechaute, W., Geerts, M. L., & Remon, J. P. (1996). Sucrose laurate gels as a percutaneous delivery system for oestradiol in rabbits. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 48(5), 463–467. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8799868>

- Vora, B., Khopade, A. J., & Jain, N. K. (1998). Proniosome based transdermal delivery of levonorgestrel for effective contraception. *Journal of Controlled Release*, 54(2), 149–165. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9724902>
- Vyas, T., Shahiwala, A., & Amiji, M. (2008). Improved oral bioavailability and brain transport of saquinavir upon administration in novel nanoemulsion formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 347(1-2), 93–101. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517307005169>
- Wagner, F. W., Dean, M. A., de la Motte, R. S., & Stryker, V. H. (1991). Patente Americana N.º 4983731. EUA.
- Walstra, P. (1993). Principles of emulsion formation. *Chemical Engineering Science*, 48(2), 333–349.
- Wiechers, J. W. (1989). The barrier function of the skin in relation to percutaneous absorption of drugs. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 11(6), 185–98. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2694089>
- Wissing, S. A., Kayser, O., & Müller, R. H. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(9), 1257–1272. doi:10.1016/j.addr.2003.12.002
- Wissing, S. A., & Müller, R. H. (2003). The influence of solid lipid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity – in vivo study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56(1), 67–72. doi:10.1016/S0939-6411(03)00040-7
- Wong, C. H., Halcomb, R. L., Ichikawa, Y., & Kajimoto, T. (1995). Enzymes in organic synthesis: application to the problems of carbohydrate recognition(Part 1). *Angewandte Chemie International Edition*, 34(4), 412–432. doi:10.1002/anie.199504121
- Yang, S., Zhu, J., Lu, Y., Liang, B., & Yang, C. (1999). Body distribution of camptothecin solid lipid nanoparticles after oral administration. *Pharmaceutical Research*, 16(5), 751–757.
- Yegin, B. A., Benoît, J.-P., & Lamprecht, A. (2006). Paclitaxel-loaded lipid nanoparticles prepared by solvent injection or ultrasound emulsification. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 32(9), 1089–1094. doi:10.1080/03639040600683501
- Yoo, H. S., Lee, K. H., Oh, J. E., & Park, T. G. (2000). In vitro and in vivo anti-tumor activities of nanoparticles based on doxorubicin-PLGA conjugates. *Journal of Controlled Release*, 68(3), 419–431. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10974396>

Yoshida, M., Katsuda, S., Nakae, D., & Maekawa, A. (2004). Lack of toxicity or carcinogenicity of S-170, a sucrose fatty acid ester, in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 42(4), 667–676. doi:10.1016/j.fct.2003.12.003

Zeringue, H., & Feuge, R. (1976). Purification of sucrose esters by selective adsorption. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53(9), 567–571. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/BF02586310>

Zimmermann, E., & Müller, R. H. (2001). Electrolyte- and pH-stabilities of aqueous solid lipid nanoparticle (SLN) dispersions in artificial gastrointestinal media. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52(2), 203–210.